

**BEEINFLUSSUNG DER DURCH
DIÄTHYLNITROSAMIN INDUZIERTEN
CANCEROGENESE DER RATTENLEBER
DURCH GLUCOCORTICOIDE**

Albert Zech

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551910_0051

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. M. Eder

BEEINFLUSSUNG DER DURCH DIÄTHYLNITROSAMIN INDUZIERTEN
CANCEROGENESE DER RATTELEBER DURCH GLUCOCORTICOIDE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

ALBERT ZECH

aus
Landshut

1974

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. A. Schauer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. M. Eder

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4.2.1975



Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
I. Material und Methodik	2
II. Ergebnisse	4
1) Enzymhistochemische Untersuchungen	
a) Größe der Defektbezirke	
b) Anzahl der Defektbezirke	
2) Autoradiographische Untersuchungen	
III. Wirkungsweise der verabreichten Substanzen	13
1) Diäthylnitrosamin	
2) Glucocorticoide	
IV. Diskussion der eigenen Ergebnisse	22
1) Enzymhistochemie	
a) Größe und Anzahl der Defektbezirke	
b) Geschlechtsunterschiede	
2) Autoradiographie	
a) Einfluß von DANA auf den RNA-Stoffwechsel	
b) Gleichzeitiger Einfluß von Fluocortolon und DANA auf den RNA-Stoffwechsel	
3) Deutung der Ergebnisse	
Zusammenfassung	31
Literaturverzeichnis	33

E i n l e i t u n g

Durch viele Untersuchungen wurde der Nachweis erbracht, daß Steroidhormone auf das Wachstum maligner Tumoren fördernd und hemmend Einfluß nehmen können. Aufgrund ihrer hemmenden Wirkung werden Steroide auch in der Therapie eingesetzt, wofür als Beispiel die Verwendung von Östrogenen in der Behandlung des Prostatacarcinoms und von Glucocorticoiden in der Therapie von Tumoren des hämatopoetischen und lymphatischen Systems angeführt sei (Pearson und Mitarbeiter 1955; Pincus und Thimann 1955; Dentenwill 1956; Huggins 1960; Firminger und Mitarbeiter 1961; Liebelt und Liebelt 1962; Bloom und Mitarbeiter 1963; Takeuchi und Mitarbeiter 1966; Kodoma und Kodoma 1970; Rosen und Mitarbeiter 1972).

Auch an präcancerösen Enzymdefektbezirken der Rattenleber konnte der Einfluß von Steroidhormonen nachgewiesen werden (Schauer und Mitarbeiter 1970). Diese nur histochemisch erfaßbaren herdförmigen Bezirke von Parenchymzellen, deren Cytoplasma einen Aktivitätsverlust der Nucleosid-5'-Triphosphatasen zeigt, treten unter der cancerogenen Einwirkung von Diäthylnitrosamin bei einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht lange vor dem Zeitpunkt auf, zu dem makroskopisch sichtbare Tumoren zu beobachten sind. Schauer und Mitarbeiter (1970) berichteten von einer beschleunigten Entwicklung dieser Enzymausfallsbezirke unter Einwirkung von Östradiol und von einer Entwicklungshemmung unter Applikation von Fluocortolon bis zum 100. Tag der Cancerisierung.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, den Einfluß von Fluocortolon auf die weitere Entwicklung der durch Diäthylnitrosamin verursachten Enzymausfallsbezirke hinsichtlich der Größenzunahme und der Anzahl der neu auftretenden Defektbezirke zu beobachten.

Von besonderem Interesse schien es, die Wirkung des Glucocorticoids auf den RNA-Stoffwechsel der präcancerösen Bezirke der Rattenleber zu prüfen, der nach früheren Untersuchungen ohne Hormoneinfluß deutlich erhöht war (Schauer und Kunze 1968; Daoust und Simard 1968).

I. MATERIAL UND METHODIK

Die Untersuchungen wurden an 83 männlichen und 85 weiblichen Wistarratten durchgeführt, die ein Ausgangsgewicht von 160-180 g aufwiesen. In einem Zeitraum bis zu 180 Tagen wurde ihnen sechsmal wöchentlich 2 mg/kg Körpergewicht Diäthylnitrosamin (DÄNA) in einer wäßrigen Lösung mittels einer Schlundsonde verabreicht.

Die Gesamtmenge DÄNA, die bis zum 65. Tag der Cancerisierung verabreicht wurde, betrug 112 mg/kg Körpergewicht, am 160. Tag 274 mg/kg Körpergewicht und am 180. Tag 308 mg/kg Körpergewicht.

52 männliche und 50 weibliche Ratten erhielten zusätzlich Fluocortolon (6-*d*-Fluor-16-*d*-methyl-1-dehydrocorticosteron; Ultralan^R), ein Corticosteronderivat mit Glucocorticoidwirkung. Es wurde in einer wäßrigen Lösung suspendiert und ebenfalls sechsmal wöchentlich zwischen 7,45 und 9.30 Uhr per Schlundsonde zugeführt, zu einer Tageszeit, in der der physiologische Hormonspiegel langsam ansteigt, um am späten Nachmittag seinen Höhepunkt zu erreichen (Guillemin und Mitarbeiter 1959; Marc und Mitarbeiter 1969). Die Dosis, die bei männlichen Tieren 0,25 mg/kg KG/die und bei weiblichen Tieren 0,1 mg/kg KG/die betrug, wurde nach den Ergebnissen einer früheren Untersuchung unseres Institutes gewählt (Schauer und Mitarbeiter 1970).

Als Kontrolltiere dienten Ratten, denen nur DÄNA verabreicht worden war. Alle Tiere wurden bei Altromin-Standard-

kost und Wasser ad libitum im klimatisierten Tierstall frei von pathogenen Keimen in Makrolonkäfigen gehalten.

Die männlichen Tiere wurden am 75., 80., 85., 90., 95., 100., 120., 130., 140., 150. und 160. Tag, die weiblichen Tiere am 65., 75., 85., 90., 95., 100., 120., 130., 140., 150., 160., 170. und 180. Tag der Cancerisierung durch Dekapitation getötet.

Anschließend wurde ein 0,8 x 1 cm großer Gewebsblock aus dem rechten Leberlappen entnommen und daraus je 30 Kryostatserienschnitte von je 5 μ Dicke hergestellt. Zu den einzelnen Versuchsterminen wurden jeweils vier Tiere und ebensoviele Kontrollen ausgewertet.

Der enzymhistochemische Nachweis der Nucleosid-5'-Triphosphatasen wurde mit ATP als Substrat nach der von Wachstein und Meisel (1954) beschriebenen und von Schubert und Rinneberg (1962) modifizierten Methode durchgeführt (vergleiche Schauer und Kunze 1968).

Die Größe der Enzymdefektbezirke wurde planimetrisch bestimmt (Leitz-Mikroskop Ortholux mit Zeicheneinrichtung). Es wurde jeweils der größte Herd ausgewertet, dessen maximale Ausdehnung aus den Serienschnitten rekonstruiert wurde. Die Anzahl der Defektbezirke wurde jeweils aus dem Schnitt ermittelt, der die meisten Herde zeigte.

Die autoradiographischen Untersuchungen wurden an 16 weiblichen cancerisierten Ratten durchgeführt, die 110-180 Tage lang Fluocortolon erhalten hatten. 10 weibliche Ratten dienten zur Kontrolle. Pro Tier wurden je 60 aufeinanderfolgende Kryostatserienschnitte gefertigt, von denen alternierend ein Schnitt zur enzymhistochemischen Untersuchung und der nächste Schnitt zur autoradiographischen Auswertung gegeben wurde. Die Veränderungen des RNA-Stoffwechsels wurden am Einbau von Cytidin-5- H^3 geprüft (The Radiochemical Centre Amersham, England; spez. Aktivität 27 Ci/mMol; 0,3 mCi/100 g Körpergewicht jeweils um 8.15 Uhr intraperitoneal).

Die radioaktive Versuchszeit betrug 60 Minuten, die Fixationsdauer in neutralisiertem 10 %igem Formol 20 Minuten. Die Schnitte wurden mit Strippingfilm Kodak AR 10 überzogen und bei 4° C 19 Tage lang exponiert. Die Entwicklung und Fixierung erfolgte wie früher angegeben (Schauer und Kunze 1968; Kunze und Mitarbeiter 1971).

Zur Bestimmung des Einbaues von H^3 -Cytidin in RNA-Moleküle wurden die Silberkürner über dem Zellkern ausgezählt und die Kerngröße planimetrisch ermittelt. Aus dem Quotienten der Silberkornzahl und der Kernfläche wurde die Silberkorndichte bestimmt (SKD). Ausgezählt wurde die SKD jeweils über den Zellkernen eines deutlich erkennbaren Enzymdefektbezirkes und die SKD über der gleichen Anzahl von Zellkernen im umgebenden enzymhaltigen Leberparenchym. Die SKD der unveränderten Umgebung wurde gleich 100 % gesetzt und die des Enzymdefektes dazu in Relation gebracht. Da die Markierung in den einzelnen Präparaten und von Tier zu Tier Unterschiede aufwies, wurden keine absoluten Zahlenangaben gemacht.

Insgesamt wurden 33 Enzymausfallsbezirke von Ratten, denen Fluocortolon appliziert worden war und 18 Herde von Kontrolltieren autoradiographisch untersucht. Im Durchschnitt wurde die SKD über jeweils 45 Kernen der Enzym defektbezirke und über ebensovielen der Umgebung bestimmt.

II. ERGEBNISSE

1) Enzymhistochemische Untersuchungen

Makroskopisch war die Leber der Ratten aller Versuchsgruppen unauffällig, abgesehen von der Leber eines männlichen Tieres, die am 160. Tag der Cancerisierung einen Tumorknoten von 0,3 cm Durchmesser aufwies.

Die ersten von der Umgebung scharf abgegrenzten Enzymdefekt-

bezirke der Adenosin-5'-Triphosphatase in der Rattenleber wurden bei weiblichen Tieren am 65. Tag, bei männlichen Tieren am 70. Tag beobachtet. Anfangs bestanden die Ausfallsbezirke aus wenigen Zellen, die histologisch unauffällig waren. Der Verlust der Enzymaktivität betraf jeweils Cytoplasma und Gallengänge, nicht aber den Zellkern. Auf den Kryostatserienschnitten lagen die Defektbezirke meist intermediär, gelegentlich auch periportal oder zentral. Mit zunehmender Größe erstreckte sich ihre Ausdehnung gelegentlich von der Umgebung der Zentralvene bis zur Umgebung des Periportalfeldes.

Größe der Defektbezirke

Die Enzymdefektbezirke der Kontrolltiere beiderlei Geschlechts nahmen vom Tag des ersten Auftretens bis zum Ende der Versuchszeit am 160. Tag an Ausdehnung zu. Am 160. Tag hatten die Inseln der männlichen Kontrolltiere die 16-fache Größe und die der weiblichen Tiere die 13-fache Größe im Vergleich zu den am 75. Tag der Cancerisierung beobachteten Herden. Unterbrochen wurde die Größenzunahme bei den männlichen Tieren vom 95. bis zum 100. Tag und bei den weiblichen Tieren am 90., 100. und 150. Tag. Zu diesen Terminen waren die Defektbezirke kleiner als an den vorhergehenden Tagen.

Ein verstärkter Größenanstieg der Ausfallsbezirke fiel bei den männlichen Tieren vom 150. bis zum 160. Tag auf (Anstieg von 9-facher zu 16-facher Größe). Bei den Weibchen erfolgte eine besondere Zunahme der Ausdehnung vom 100. zum 120. Tag (Anstieg von 2-facher zu 6-facher Größe) und vom 130. zum 140. Tag (Anstieg von 7-facher zu 12-facher Größe).

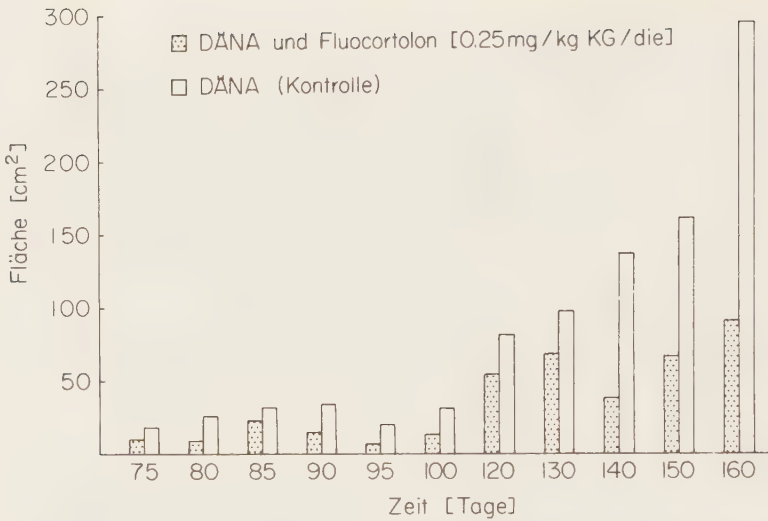


Abb. 1: Größenzunahme der Enzymdefektbezirke der ATP-ase bei männlichen Wistarratten während der Cancero-genese durch DÄNA unter Einfluß von Fluocortolon

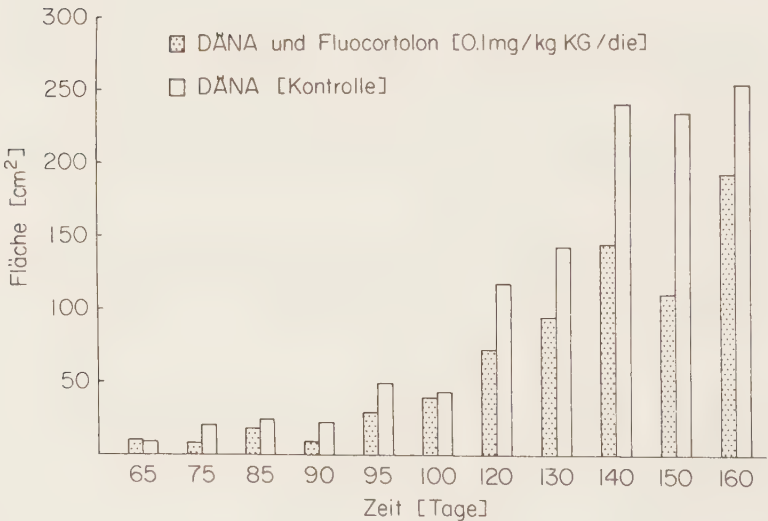


Abb. 2: Größenzunahme der Enzymdefektbezirke der ATP-ase bei weiblichen Wistarratten während der Cancero-genese durch DÄNA unter Einfluß von Fluocortolon

Die männlichen Ratten, die außer DÄNA noch Fluocortolon erhielten, zeigten Ausfallsbezirke, die am 160. Tag die 9-fache Größe hatten im Vergleich zu den am 75. Tag beobachteten Herden. Die Enzymdefekte der weiblichen Ratten wiesen am 160. Tag der Cancerisierung die 24-fache Größe der am 75. Tag aufgetretenen Herde auf.

Am 95., 100. und 140. Tag waren die Inseln der männlichen Tiere, am 90. und 150. Tag die der weiblichen Tiere kleiner als zum jeweils vorhergehenden Versuchstermin. Vom 75. bis zum 100. Tag erfolgte bei den männlichen Ratten eine Größenzunahme nur um den Faktor 1,3. Ein sprunghafter Anstieg war vom 100. auf den 120. Tag zu beobachten (von 1,3-facher zu 5-facher Größe).

Bei den weiblichen Ratten war unter Glucocorticoideinfluß eine ständige Größenzunahme der Ausfallsbezirke vom 75. bis zum 160. Tag zu beobachten. Eine Ausnahme bildeten die Defekte des 90. Tages, die kleiner waren als die des vorhergehenden Versuchstermines. Ein besonders starker Anstieg fiel auf vom 100. zum 120. Tag (von 5-facher zu 9-facher Größe) und vom 130. zum 140. Tag (von 12-facher zu 18-facher Größe).

Die Enzymausfallsbezirke der mit Fluocortolon behandelten Ratten beiderlei Geschlechts entwickelten sich langsamer und waren zu jedem Zeitpunkt bis zum 160. Tag kleiner als die der Kontrolltiere, die nur DÄNA erhielten (abgesehen vom 65. Tag der Cancerisierung bei weiblichen Tieren). Bei männlichen Tieren betrug die Größe der Defektbezirke durchschnittlich nur 44 % der Größe der Herde, die bei den Kontrolltieren auftraten. Die Herde der Kontrolltiere waren am 75. Tag um das 1,8-fache, am 80. Tag um das 3-fache, am 85. Tag um das 1,4-fache, am 90. Tag um das 2,2-fache, am 95. Tag um das 2,8-fache, am 100. Tag um das 2,4-fache, am 120. Tag um das 1,5-fache, am 130. Tag um das 1,4-fache, am 140. Tag um das 3,6-fache, am 150. Tag um das 2,4-fache und am 160. Tag um das 3,2-fache größer als die Enzymdefekte unter Glucocorticoideinfluß (Extremwerte: 85. Tag 1,4 und 140. Tag 3,6).

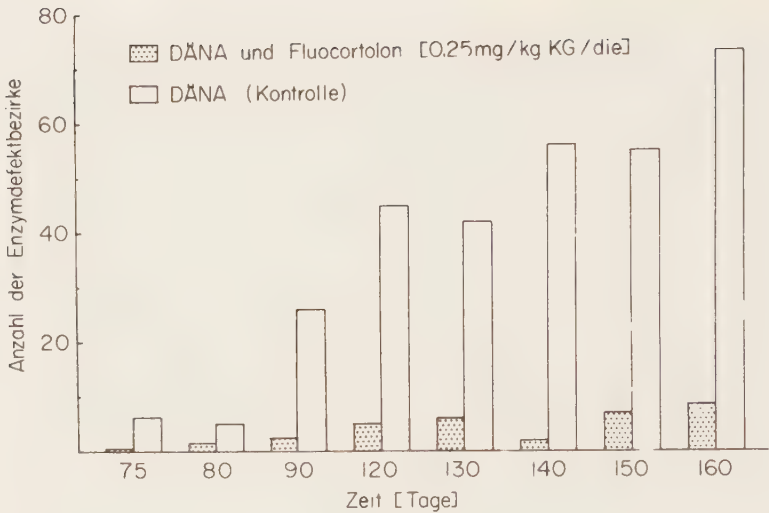


Abb. 3: Zunahme der Anzahl der Enzymdefektbezirke der ATP-ase bei männlichen Wistarratten während der Cancerogenese durch DANA unter Einfluß von Fluocortolon

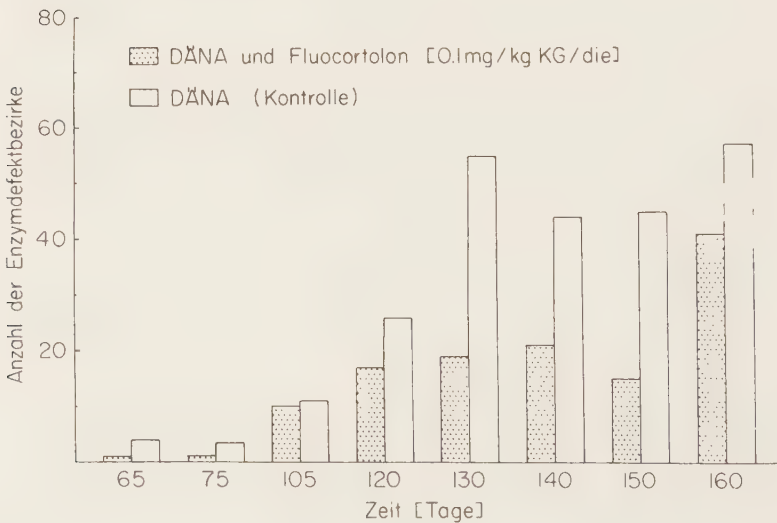


Abb. 4: Zunahme der Anzahl der Enzymdefektbezirke der ATP-ase bei weiblichen Wistarratten während der Cancerogenese durch DANA unter Einfluß von Fluocortolon

Die Größe der Ausfallsbezirke der Weibchen betrug im Durchschnitt 60 % der Größe der bei den Kontrollen aufgetretenen Herde. Der Wert, um den die Kontrollen höher lagen, betrug am 65. Tag das 0,9-fache, am 75. Tag das 2,6-fache, am 85. Tag das 1,3-fache, am 90. Tag das 2,4-fache, am 95. Tag das 1,7-fache, am 100. Tag das 1,1-fache, am 120. Tag das 1,6-fache, am 130. Tag das 1,5-fache, am 140. Tag das 1,7-fache, am 150. Tag das 2,1-fache und am 160. Tag das 1,3-fache (Extremwerte: 0,9 am 65. Tag und 2,1 am 150. Tag).

Die Flächenzunahme der Enzymdefektbezirke war unter Fluocortoloneinfluß bei männlichen Tieren stärker gehemmt als bei Weibchen.

Anzahl der Defektbezirke

Die Anzahl der Defektbezirke pro Schnitt nahm mit fortschreitender Cancerisierung bei allen Versuchsgruppen zu, doch war sie unter Glucocorticoideinfluß beständig niedriger als bei den Kontrollen. Gegen Ende der Versuchszeit konfluieren die Ausfallsbezirke und waren daher gelegentlich nur noch schlecht voneinander abgrenzbar.

Bei den männlichen Kontrolltieren stieg die Anzahl der Inseln vom 75. bis zum 160. Tag um das 12-fache (von 6 auf 73 Bezirke pro Tier), bei den weiblichen Tieren betrug die Zunahme das 16-fache (von 3,5 auf 57 pro Tier).

Unter Glucocorticoideinfluß war bei den Männchen am 75. Tag nur bei jedem zweiten Tier ein Enzymdefekt festzustellen. Am 160. Tag fand man durchschnittlich 8 Bezirke pro Tier (Anstieg auf das 16-fache). Die Anzahl der Inseln nahm kontinuierlich zu mit Ausnahme des 140. Tages, an dem nur 2 Defekte auftraten.

Die Leber der weiblichen Tiere, die Fluocortolon erhielten, wies am 75. Tag einen, am 160. Tag 41 Bezirke auf. Bis zum 140. Tag fand eine kontinuierliche Zunahme bis zu 21 Defek-

ten statt. Nach einem Rückgang am 150. Tag erfolgte zum 160. Tag eine sprunghafte Zunahme auf 41 Enzymausfallsbezirke.

Die männlichen Ratten entwickelten im Durchschnitt unter Fluocortolon nur 9 % der Anzahl der Enzymdefektbezirke, die bei den Kontrollen beobachtet wurden. Der Quotient aus der Anzahl der bei den Kontrollen aufgetretenen Herde zur Anzahl der Herde unter Glucocorticoidgabe ist am 75. Tag 12, am 80. Tag 3, am 90. Tag 10, am 120. Tag 9, am 130. Tag 7, am 140. Tag 30, am 150. Tag 8,5 und am 160. Tag 9 (Extremwerte: 3 am 80. Tag und 30 am 140. Tag).

Die weiblichen Tiere zeigten durchschnittlich 40 % der Anzahl der bei den Kontrollen beobachteten Defektbezirke. Der Quotient betrug am 65. Tag 4, am 75. Tag 3, am 105. Tag 1,1, am 120. Tag 1,8, am 130. Tag 3, am 140. Tag 2, am 150. Tag 3 und am 160. Tag 1,5 (Extremwerte: 1,1 am 105. Tag und 4 am 65. Tag).

Fluocortolon hemmte die Entwicklung von neuen Ausfallsbezirken bei Männchen wesentlich stärker als bei Weibchen. Die Hemmung zeigte sich deutlicher beim Auftreten von neuen Bezirken als beim Vergleich der Größenzunahme. So betrug die Anzahl der unter Glucocorticoidgabe aufgetretenen Enzymdefektbezirke bei männlichen Ratten nur 9 %, bei weiblichen Tieren 40 % der bei den Kontrollen beobachteten Anzahl. Die Größenzunahme wurde bei den Männchen auf 44 %, bei den Weibchen auf 60 % gegenüber den Kontrollwerten reduziert.

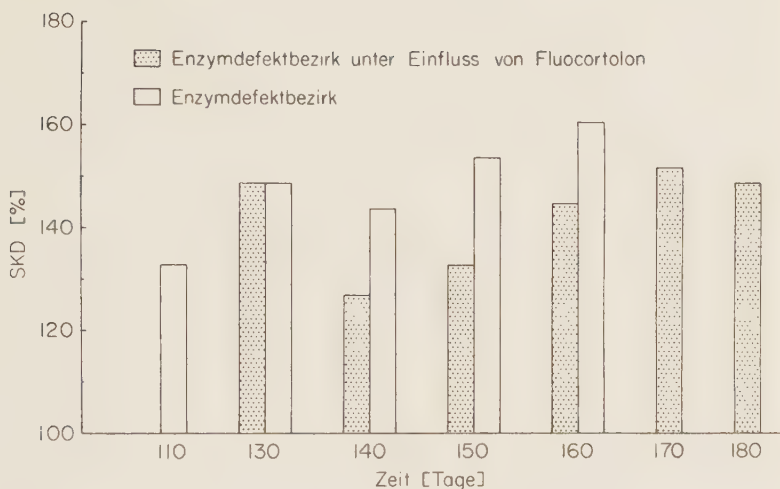


Abb. 5: H^3 -Cytidineinbau in die Zellkerne präneoplastischer Enzymdefektbezirke mit und ohne Einfluß von Fluocortolon. Die SKD des umgebenden Parenchyms wurde gleich 100 % gesetzt, die der zugehörigen Enzymdefektbezirke dazu in Relation gebracht

2) Autoradiographische Untersuchungen

Die autoradiographischen Untersuchungen des RNA-Stoffwechsels wurden an 51 Enzymdefektbezirken aus Lebern weiblicher Ratten durchgeführt, die 130 - 180 Tage lang DÄNA und Corticosteron erhalten hatten. Zur Kontrolle dienten 18 Defekte von Tieren, denen nur DÄNA verabreicht worden war. Eine Stunde nach der intraperitonealen Injektion von H^3 -Cytidin war die überwiegende Anzahl der Silberkörner noch über dem Zellkern, was mit den Beobachtungen von Schauer und Kunze (1968) übereinstimmt.

Im Bereich der Enzymdefekte ergab sich eine Änderung des Einbaues von H^3 -Cytidin in die RNA des Zellkernes:

Bei den Kontrollen fand sich in 17 von 18 Fällen eine Erhöhung und einmal eine Erniedrigung der Einbaurrate gegenüber der Umgebung.

Unter Corticosteroneinfluß zeigten 31 von 33 Enzymdefekten einen erhöhten, ein Bezirk einen erniedrigten und ein Bezirk einen gegenüber der Umgebung unveränderten Einbau von H^3 -Cytidin.

Die quantitative Auswertung ergab bei den Kontrollen eine Zunahme der Silberkorndichte (SKD) über den Kernen der Ausfallsbezirke um 49 %. Am 110. Tag war die SKD gegenüber der Umgebung um 33 %, am 132. Tag um 49 % und am 140. Tag um 44 %, am 150. Tag um 54 % und am 160. Tag um 61 % erhöht.

Gleichzeitige Corticosteronzufuhr verursachte einen Anstieg der SKD über den Kernen der Ausfallsbezirke um durchschnittlich 44 % gegenüber den Kernen der Umgebung. Am 130. Tag betrug die Zunahme 49 %, am 140. Tag 27 %, am 150. Tag 33 %, am 160. Tag 45 %, am 170. Tag 52 % und am 180. Tag 49 %.

In den Zellkernen der präcancerösen Enzymdefekte zeigte sich fast regelmäßig (in 94 % der Fälle) ein gegenüber der Umgebung um das 1,4-1,5-fach erhöhter H^3 -Cytidineinbau. Glucocorticoidwirkung erniedrigte zwar die Einbaurrate im Durchschnitt um 4 % gegenüber der Kontrolle, doch ist die Erniedrigung so gering, daß sie mit Wahrscheinlichkeit in die Fehlerbreite fällt.

Mit dem Fortschreiten der Cancerisierung ergab sich vom 110. zum 180. Tag eine Zunahme der Markierung in den Ausfallsbezirken (Schauer und Kunze 1968). Bei den mit Fluocortolon behandelten Tieren bewegte sich die Zunahme von 27 % Erhöhung am 140. Tag bis zu 52 % am 170. Tag. Am 130. Tag und 180. Tag wurde jeweils ein Anstieg von 49 % registriert.

Parallel dazu geht der Anstieg in der SKD bei den Kontrolltieren von 33 % am 110. Tag zu 61 % am 160. Tag.

III. WIRKUNGSWEISE DER VERABREICHTEN SUBSTANZEN

1. Diäthylnitrosamin

Magee und Barnes berichteten 1956 erstmals über das Auftreten von Lebertumoren unter dem Einfluß von Dimethylnitrosamin. Seitdem wurde der cancerogene Effekt der Nitrosamine in zahlreichen weiteren Untersuchungen bestätigt (Magee 1956; Magee und Lee 1964; Hobik und Grundmann 1962; Oehlert und Hartje 1963; Schauer und Kunze 1968).

Enzymhistochemische Untersuchungen ergaben, daß bei kontinuierlicher Verabreichung von DANA (4 mg/kg/die) um den 65. Tag, also lange vor dem Auftreten makroskopisch sichtbarer Veränderungen in der Rattenleber herdförmige, scharf abgegrenzte Gebiete zu sehen sind, die aus Parenchymzellen bestehen, deren Cytoplasma einen Aktivitätsverlust der Adenosin-5'-Triphosphatase (Schauer und Kunze 1968) und der Glucose-6-Phosphatase (Hadjolojov 1967; Farber 1968; Schauer und Kunze 1968; Friedrich-Frekse und Mitarbeiter 1969) aufweist. Die Ausfallsbezirke der beiden Enzyme sind nach Schauer und Feichtner (1968) nicht als identisch anzusehen.

Die Enzymdefektbezirke der Adenosin-5'-Triphosphatase sind mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht toxisch bedingt und, wie durch Absetzungsversuche nachgewiesen wurde, irreversibel (Schauer und Feichtner 1968; Schauer und Kunze 1973). Sie sind als Vorläufer hepatocellulärer Hepatome zu betrachten (Daoust und Simard 1968; Briere und Daoust 1970; Goldfarb 1973; Schauer und Kunze 1973). Histologisch sind die Zellen der Defektbezirke anfangs unauffällig. Sie unterscheiden sich nach Scherer und Hofmann (1971) und Rabes und Mitarbeiter (1972) nur durch ihre Antigeneigenschaften von erwachsenen Parenchymzellen.

In den Zellen der Enzymausfallsbezirke wurde eine Anhäufung von Glykogen beobachtet, die auch durch Hunger nicht zu beeinflussen war und beim Übergang in das Carcinom wieder ver-

schwand (Farber 1968; Schauer und Kunze 1968; Friedrich-Frekxa und Mitarbeiter 1969). Auch Bannasch (1967) fand Glykogenspeicherherde in präcancerösen Lebern nach Einwirkung von N-Nitrosomorpholin. Es ist noch nicht geklärt, auf welche Änderungen der Aktivität und Kinetik der im Glykogenstoffwechsel wirksamen Enzyme die Glykogenspeicherung zurückzuführen ist.

Durch DÄNA induzierte, makroskopisch sichtbare Tumoren wurden bei einer Dosierung von 4 mg/kg/die erstmals am 110. Tag beobachtet (Schauer und Kunze 1968). Histologisch bestehen sie aus einer Anzahl basophiler, noch gut differenzierter Zellen, aus denen sich später ein hepatocelluläres Carcinom entwickelt, das häufig einen Aktivitätsverlust der Adenosin-5'-Triphosphatase zeigt (Friedrich-Frekxa und Mitarbeiter 1969; Schauer und Kunze 1973).

Autoradiographische Untersuchungen ergaben einen veränderten Einbau von H^3 -Cytidin in den basophilen Herden der Enzymdefektbezirke der Leberparenchymzellen, was auf einen veränderten RNA-Stoffwechsel schließen läßt (Cote und Oehlert 1962; Oehlert und Hartje 1963; Daoust und Simard 1968; Schauer und Kunze 1968).

Da sich aus dem zu Beginn der Cancerisierung meist unveränderten H^3 -Thymidin-Markierungsindex der Defektbezirke keine Steigerung der Proliferation ergibt, wurde von eigenen Untersuchungen des DNA-Stoffwechsels abgesehen. Im weiteren Verlauf der Cancerisierung nimmt die Proliferationskinetik zu (Rajewsky 1972; Rabes und Mitarbeiter 1972; Schauer und Kunze 1973).

Herdförmiger Enzymaktivitätsverlust wurde an der Rattenleber auch nach Applikation von Dibutylnitrosamin und 1,2-Dimethylhydrazin (Kunze und Mitarbeiter 1970) und 2-AAF (Kitagawa 1971) DAB (Daoust und Calamai 1971), N-4[-nitro-2-furyl-2-thiazolyl]-Formamid (NFTF) beobachtet (vergleiche Schauer und Kunze 1973).

Ähnliche präneoplastische herdförmige Enzymdefekte wurden in Vergleichsuntersuchungen nach Applikation von Dibutylnitrosamin im Urothel der Ratten nachgewiesen (Kunze und Mitarbeiter 1973).

Durch eingehende Untersuchungen wurde geklärt, daß die cancerogene Wirkung nicht von den Nitrosaminen selbst, sondern von deren Metaboliten ausgeht (Magee 1956; Magee und Lee 1964, Druckrey 1964; Farber 1968; Lawley 1973; Krüger 1973). Initialschritt für die Umwandlung von Nitrosamin in die hochreaktive alkylierende Wirkform ist eine enzymatische α -Hydroxylation einer der aliphatischen Ketten durch Enzyme des endoplasmatischen Retikulums. Durch die folgende hadrolytische Spaltung entsteht ein Monoalkylnitrosamin, aus dem ein Diazoalkan und schließlich durch Abspaltung eines Stickstoffmoleküls ein Carboniumion gebildet wird. Dieses Carboniumion ist das eigentliche cancerogene Agens, das sich an die DNA, RNA und in geringem Maße auch an die Proteine anlagert. Bevorzugt wird die N-7-Position des Guanidin alkyliert. Dadurch kommt es zum Ausfall und zur Mutation von Genen, was zu einer veränderten genetischen Information führt. Die Folge sind Fehlleistungen des genetischen Systems, die im vorliegenden Fall infolge der unterbliebenen Proteinsynthese zu den Enzymdefektbezirken der Nucleosid-5'-Triphosphatasen führen.

2. Glucocorticoide

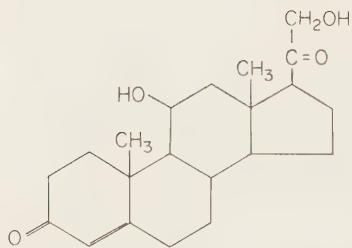
Corticosteron ist bei der Ratte das Hauptglucocorticoid, während Cortison, das beim Menschen den Hauptanteil der Nebennierenrindenhormone stellt, nicht ausgeschüttet wird. (Leon 1966; Lowy und Mitarbeiter 1969; Colby und Mitarbeiter 1972).

Der Abbau des Corticosteron in der Rattenleber geschieht über die Reduktion von Doppelbindungen und Sauerstoff. Als Hauptmetabolite erscheinen bei der Ratte Hexahydroderivate, während beim Menschen Tetrahydroderivate im Vordergrund stehen. Ein Nebenweg des Abbaues, der über 6- β -hydroxycorticosteron geht, wird nach Enzyminduktion signifikanter (Bogdanski und Mitarbeiter 1971). Der größte Teil des Hormons und seiner Metabolite wird durch den Intestinaltrakt als Estersulfat ausgeschieden (Lowy 1969). Beim Menschen er-

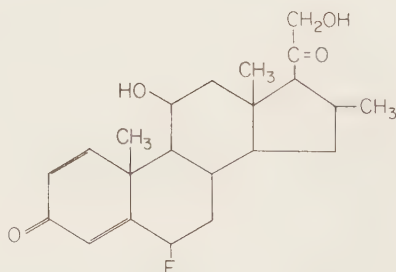
folgt die Ausscheidung als Glucuronid im Urin.

Die Geschwindigkeit des Hormonabbaues wird in der Rattenleber z. T. durch Gonadenhormone beeinflusst. Nach Colby und Mitarbeiter (1972) ist die Halbwertszeit von Corticosteron bei weiblichen Ratten signifikant kürzer als bei den Männchen.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit Fluocortolon durchgeführt, einem Corticosteronderivat mit Glucocorticoidwirkung (Ultralan^R). Es unterscheidet sich von Corticosteron durch eine zweite Doppelbindung im A-Ring, eine 16- α -Methylgruppe und eine Fluorsubstitution in der 6- α -Position. In der gluconeogenetischen Wirkung entspricht Fluocortolon dem Prednisolon, dem es in der antiphlogistischen Wirkung überlegen sein soll (Domenico und Mitarbeiter 1965; Hochheuser und Sovatzoglou 1970).



Corticosteron



Fluocortolon

Der Wirkungsmechanismus der Steroidhormone in der Zelle ist trotz zahlreicher Untersuchungen noch nicht völlig geklärt. Als einer der ersten und wesentlichen Schritte gilt die Assoziation der Hormone an genetisch determinierte cytoplasmatische Rezeptorproteine des Zielorgans (Baxter und Tomkins 1971; Jensen und Mitarbeiter 1971; Frowein 1972; Karlson und Sekeris 1973). Diese "Hormonrezeptoren" haben die Fähigkeit, Steroidhormone zu binden, und sind dadurch die Ursache für die in den Erfolgsorganen gegenüber dem umgebenden Gewebe wesentlich erhöhte Hormonkonzentration. Spezifische Rezeptorproteine für Glucocorticoide wurden in Rattenleberzellen, in lymphatischen Zellen der Maus und in den Zellen einer Hepatomzellkultur nachgewiesen (Karlson 1967; Morey und Litwack 1969; Baxter und Tomkins 1971). Die Art der Bindung der Hormone an das Rezeptorprotein ist noch nicht geklärt (Williams-Ashman 1965). Unklar ist auch noch die physiologische Bedeutung der Hormonrezeptoren. Vielleicht besteht ihre Aufgabe nur in der Akkumulation und im Transport der Hormone in den Zellkern. Möglicherweise sind sie jedoch auch an der Regulierung der Transkription beteiligt (Jensen und Mitarbeiter 1971; Karlson und Sekeris 1973).

Der eigentliche Angriffspunkt der Steroidhormone liegt nach Karlson und Sekeris (1973) im Zellkern. Ausgangspunkt für diese Hypothese war die Beobachtung, daß das zu den Steroiden zählende Insektenhormon Ecdyson (Krüger 1970) bestimmte Chromosomenabschnitte zur RNA-Synthese aktiviert (Karlson 1961). Nach dieser Vorstellung stimulieren Glucocorticoide die Proteinsynthese auf der Stufe der Transskription, worunter die Biosynthese der RNA durch die DNA-abhängige Polymerase an der Matrize nach dem Muster der DNA verstanden wird (Karlson 1967).

In vielen Untersuchungen wurde in vivo und in vitro nachgewiesen, daß Glucocorticoide in der Leberzelle einen deutlichen Anstieg der nucleären RNA-Synthese bewirken (Kidson und Kirby 1964; Lucacs und Sekeris 1967; Sekeris 1967; Lang

und Mitarbeiter 1968; Ledinco und Toolan 1968; Stackhouse und Mitarbeiter 1968; Agarwal und Mitarbeiter 1969; Amaral und Werthamer 1969; Beato und Mitarbeiter 1969; Cox und Mathias 1969; Feilgelson und Feigelson 1969; Jacob und Mitarbeiter 1969; Ohtsuka und Koide 1969; Hanoune und Feigelson 1970; Loeb und Tolentino 1970; Ottolenghi 1970; Sluyser 1971). Die Erhöhung der RNA-Synthese betrifft die nucleäre m- und t-RNA, nach einigen Untersuchern auch die cytoplasmatische nicht ribosomale RNA (Gelehrter und Tomkins 1967). Nach Beato (1970) werden durch die hormonbedingte Stimulation neue RNA-Spezies gebildet, die ein höheres AU/GC Basenverhältnis aufweisen. Andere (Cox und Mathias 1969) stimmen hier nicht zu. Hanoun und Feigelson (1970) berichten von einem generellen Anstieg aller Arten der RNA.

Auffallend ist, daß der Anstieg der RNA-Synthese offensichtlich nicht nur die spezifische m-RNA einiger Enzyme betrifft, sondern viel größer ist, als für die Information bestimmter Enzyme notwendig wäre. Noch im Zellkern wird die neugebildete RNA durch hydrolytische Spaltung in kleinere Stücke zerlegt, wobei noch Poly-A-Sequenzen angehängt werden (Karlson und Sekeris 1973). Da nur ein Teil der neugebildeten RNA den Kern verläßt und die Information ins Cytoplasma bringt, ist hier vielleicht ein Angriffspunkt der hormonalen Kontrolle zu sehen.

Ungeklärt ist noch der eigentliche Primärprozeß, der die Induktion der RNA bewirkt. Für Bakterien gilt der für Jacob und Monod erforschte Mechanismus, wonach ein Repressor solange die Transskription blockiert, bis ein Induktor (z.B. das Substrat bei Bakterien) in die Zelle eindringt und sich mit dem Repressor verbindet. Es ist umstritten, wie weit sich dieses Modell auf die höheren Organismen übertragen läßt. Aber möglicherweise hat sich das Grundprinzip der Wechselwirkung zwischen Induktor und Repressor, einem Abschnitt der DNA und Protein, auch bei höheren Organismen erhalten. Es wäre denkbar, daß sich der oben erwähnte Rezeptor-Hormonkomplex mit dem Repressor verbindet und damit DNA zur

Transskription freigegeben wird, so daß die DNA-Polymerase hier angreifen könnte (negative Kontrolle). Der hormonbeladene Rezeptor könnte aber auch eine positive Kontrolle ausüben, indem er durch seine Bindung an DNA eine verstärkte Wechselwirkung zwischen DNA und DNA-abhängiger Polymerase auslöst (Karlson und Sekeris 1973).

Eine Erhöhung der RNA-Biosynthese ist verbunden mit einer Steigerung der RNA-Polymeraseaktivität und einer Zunahme des Chromatingehaltes des Zellkerns (Lucacs und Sekeris 1967; Sekeris 1967; Stackhouse und Mitarbeiter 1968; Beato und Mitarbeiter 1969; Ohtsuka und Koide 1969; Ottolenghi und Barnabei 1970; Frowein 1972; Karlson und Sekeris 1973). Durch Hybridisierungsexperimente ließ sich nachweisen, daß neue DNA-Abschnitte unter Cortisoneinfluß freigelegt werden und damit auch die verfügbare Menge an Matrize vermehrt wird.

Experimentell zeigte sich unter Einfluß von Glucocorticoiden auch ein Aktivitätsanstieg der Histone und sauren Kernproteine (Ohtsuka und Koide 1969; Sluyser 1971). Möglicherweise spielen auch die beiden genannten Kernfraktionen eine Rolle im Transskriptionsprozeß. Für beide wurde eine Bindung mit Steroiden nachgewiesen (Karlson und Sekeris 1973). Sluyser (1971) ist der Ansicht, daß die Histone die Rolle von Repressoren spielen könnten, auf die das Steroidhormon einwirkt. Beato (1970) entdeckte unter Cortisoneinfluß einen erhöhten SH-Gruppen-Gehalt in den sauren Kernproteinen und in den Histonen.

Die gesteigerte Matrizenaktivität des Chromatins hat eine gesteigerte RNA-Synthese zur Folge, die wiederum zur verstärkten Neubildung von Protein, also von Enzymen führt (Leon 1966; Litwack und Baserga 1967; Amaral und Mitarbeiter 1969; Karlson und Sekeris 1973). Neugebildet werden Enzyme des Aminosäurestoffwechsels und der Gluconeogenese. Zu den Enzymen, deren Synthese durch Glucocorticoide gesteigert wird, zählen die Tryptophanpyrrolase und die Tyrosin- α -Ketoglutarattransaminase (Bush 1967; Gelehrter und Tom-

kins 1967; Cox und Mathias 1969; Feigelson und Feigelson 1969; Beato 1970; Lang und Mitarbeiter 1970). Für die beiden genannten Enzyme gelang in vitro der Nachweis neugebildeter spezifischer m-RNA. Auch die Neusynthese der Tryptophanoxygenase (Kizer und Mitarbeiter 1969), eines Esterase-Isoenzyms (Hines 1969), der Glykogensynthetase (Sie und Mitarbeiter 1967) und der Serindehydrogenase (Fallon und Byrne 1967) wurde nachgewiesen. Nach der Induktion der gluconeogenetischen Enzyme ist die Erhöhung des Glykogengehaltes der Leberzellen zu erwarten. Vielleicht hängt mit dem glykoneogenetischen Effekt des Corticosterons auch der Aktivitätsabfall der 3-P-Glyceratdehydrogenase und der D-Glyceratdehydrogenase zusammen (Fallon und Byrne 1967).

Die neugebildete m-RNA muß nun die Information in das Cytoplasma bringen. Da nur spezifische RNA ins Cytoplasma gelangt und da dieser Prozeß unter Steroideinfluß beschleunigt abläuft, besteht möglicherweise ein Hormoneinfluß auf diesen Transportweg (Hamilton 1971; Karlson und Sekeris 1973).

Nach der noch sehr umstrittenen Hypothese Tomkins (Tomkins und Mitarbeiter 1969; vergleiche auch Karlson und Sekeris 1973; Frowein 1972) spielt sich der stimulierende Steroideinfluß primär auf der Ebene der Translation ab, d. h. die Hormone wirken auf die Übersetzung der RNA-Sequenz in die Aminosäuresequenz, auf die Biosynthese des Proteins am Ribosom. Nach Meinung Tomkins, der über die Induktionsmechanismen der Tyrosin-~~L~~-Ketoglutarat-Transaminase an einer Leberzellkultur arbeitete, wirkt das Hormon als Induktor im Cytoplasma. Wenn es dort durch seine Anwesenheit den Repressor blockiert, kann Proteinsynthese stattfinden. Unter dem Einfluß von Cortisol heften sich auch vermehrt Ribosomen an das endoplasmatische Retikulum. Nach der cytoplasmatischen Proteinsynthese wird der Repressorhormonkomplex in den Kern geschleust.

Unter dem Einfluß von Glucocorticoiden kommt es also in der Leberzelle zur Steigerung der RNA-Synthese. Damit ist eine

erhöhte Aktivität der RNA-Polymerase, von Histonen und Kernproteinen und eine verstärkte Neusynthese von Enzymen des Aminosäurestoffwechsels und der Gluconeogenese verbunden.

Im Gegensatz zu ihrer fördernden Wirkung auf RNS und Proteinsynthese haben die Glucocorticoide einen hemmenden Effekt auf die DNA-Synthese und die mitotische Aktivität der normalen und regenerierenden Rattenleber (Berliner und Dougherty 1961; Bullough und Laurence 1965; Bush 1967; Guzek 1968, Wiener 1968; Amaral und Mitarbeiter 1969; Amaral und Werthamer 1970; Rizzo 1971; Hennings und Elgio 1971; Wesemann 1972).

Glucocorticoide führen zu einer Reduzierung der DNA-Neosynthese (Wiener 1968) und dadurch zur Verminderung des DNA-Gehaltes der Zellkerne. Die Hemmung der Mitose (nach Hennings (1971) über 60 % in der regenerierenden Rattenleber) und der DNA-Synthese stehen insofern in Beziehung zueinander, als die Mitose erst dann beginnen kann, wenn die Proteinsynthese beendet ist. Die durch Fluocortolon bedingte Hemmung der DNA-Synthese, die mittels der H^3 -Thymidin-Einbaurate in die DNA des Zellkerns festgestellt wird, ist reversibel und wird bereits durch Glucocorticoiddosen erzielt, die beinahe physiologisch sind (Webb und Wozney 1969; Wesemann 1972). Der Mechanismus, durch den die Glucocorticoide auf das Zellwachstum Einfluß nehmen, ist noch nicht vollkommen geklärt. Man vermutet eine direkte oder indirekte Störung der DNA-Synthese und eine Beeinträchtigung der Mitose in der G_1 und/oder G_2 -Phase (Guzek 1968; Hennings und Elgio 1971). Die hemmende Wirksamkeit des Cortisons ist nach Kollmorgen und Griffin (1969) nicht mitose-, sondern gewebsspezifisch, wofür eine Erklärung bislang noch aussteht. Bullough (1965) vermutet als Ursache einen zellspezifischen Cofaktor, der für die Reaktion der Zelle verantwortlich ist.

IV. DISKUSSION DER EIGENEN ERGEBNISSE

1. Enzymhistochemie

Größe und Anzahl der Defektbezirke

Die als erste Anzeichen der Cancerisierung durch DÄNA auftretenden Enzymdefektbezirke mit einem Aktivitätsverlust der ATP-ase werden durch Fluocortolon hemmend beeinflusst. Unter der Hormonwirkung entwickelten sich die Defektbezirke bis zum 160. Tag langsamer und waren zu jedem Zeitpunkt kleiner als die der Kontrolltiere, die nur DÄNA erhielten.

Ebenso war die Anzahl der Enzymausfallsbezirke unter Fluocortolon bis zum 160. Tag im Vergleich zu den Kontrollen beständig kleiner.

Diese Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen stimmen mit den Beobachtungen von Schauer und Mitarbeiter (1970) überein, die eine Hemmung der Größenentwicklung der Defektbezirke durch Fluocortolon bis zum 100. Tag der Cancerisierung feststellten. Das Größenwachstum der Enzymausfallsbezirke kommt unter der Hormonwirkung bis zum 160. Tag nicht zum Stillstand, wird aber verlangsamt. Deutlicher zeigt sich der Einfluß des Glucocorticoids noch in der gegenüber den Kontrollen verminderten Anzahl der neu auftretenden Defektbezirke.

Geschlechtsunterschiede

Verschiedene Autoren berichteten, daß männliche Tiere eine stärkere Reaktion auf zugeführte Carcinogene zeigen als weibliche Tiere. Infolge der Cancerisierung mit N-hydroxy-2-AAF-Sulfotransferase (De Baun 1970), Fluorenyldiacetamid (Firminger und Reuber 1961; Reuber 1965) entwickelte die Leber der männlichen Ratten jeweils deutlich mehr Hepatome als die Leber der weiblichen Tiere. Auch das Wachstum des Ehrlich Ascites-Tumors ist in männlichen Mäusen ausgepräg-

ter als in Weibchen (Kodoma 1962; Takeuchi und Mitarbeiter 1965). Die Anwesenheit des anabol wirkenden Testosterons scheint ein Grund für die verstärkte Ansprechbarkeit männlicher Tiere auf zugeführte Carcinogene zu sein. So beobachtete man eine verstärkte Bildung von Hepatomen an kastrierten männlichen Ratten, denen Testosteron appliziert worden war (Morris und Firminger 1956; Firminger und Reuber 1961; Bloom und Mitarbeiter 1963).

In unseren Untersuchungen ließen die präcancerösen Defektbezirke bei Tieren, die nur DÄNA erhielten, in ihrem Größenwachstum keinen eindeutigen Geschlechtsunterschied erkennen. Hingegen trat bei männlichen Tieren eine größere Anzahl von Defektbezirken auf als bei weiblichen.

Ein deutlicher Geschlechtsunterschied im Größenwachstum und in der Zunahme der Anzahl der Enzymdefektbezirke zeigte sich aber unter der Einwirkung von Fluocortolon. Bei Männchen wurde die Entwicklung der Herde stärker gehemmt als bei den Weibchen.

Eine wesentliche Ursache für diesen Befund ist sicher die unterschiedliche Glucocorticoiddosis, die bei den Männchen 0,25 mg/kg/die und bei den Weibchen 0,1 mg/kg/die betrug. Möglicherweise spielt aber auch die unterschiedliche geschlechtsabhängige Ansprechbarkeit auf das Hormon eine Rolle, insofern als männliche Tiere auf die Zufuhr von Cortison stärker reagieren als weibliche Ratten. Takeuchi (1965) berichtet, daß der hemmende Effekt von Hydrocortison auf den Ehrlich Ascites-Tumor bei männlichen Tieren ausgeprägter sei als bei weiblichen. Ebenso sind nach Liebelt und Liebelt (1962) männliche Mäuse für den antileukämischen Effekt des Cortisons empfänglicher als Weibchen.

Ursache für eine verstärkte Wirkung von Glucocorticoiden auf die Leber männlicher gegenüber der weiblicher Tiere könnte der verlangsamte Steroidabbau sein. Kato und Takahashi (1970) wiesen nach, daß in männlichen Ratten, die ein Walker Carcinosarkom 256 tragen, die Hydroxilierungsaktivi-

tät der Mikrosomen in verstärktem Maße abnimmt, wodurch der Steroidabbau verlangsamt wird. Da die biologische Halbwertszeit von Corticosteron, wie bereits erwähnt, in Weibchen wesentlich kürzer als in Männchen ist (Colby 1972), bleibt die Hormonwirkung auf die Leber der Männchen im Vergleich dazu längere Zeit erhalten.

2. Autoradiographie

Einfluß von DÄNA auf den RNA-Stoffwechsel

Da sowohl DÄNA als auch Fluocortolon eine wesentliche Wirkung auf den Stoffwechsel der Nucleinsäuren ausüben, ist das Verhalten der RNA unter der gleichzeitigen Einwirkung der beiden Substanzen von großem Interesse.

Als Indikator für Veränderungen des RNA-Stoffwechsels wurde H^3 -Cytidin benutzt, das nach kürzeren Einbauzeiten überwiegend in der RNA wiedergefunden wird (Rajewsky 1967; Schauer und Kunze 1968). Die β -Selbstabsorption wurde bei der Berechnung der SKD über den Zellkernen nicht berücksichtigt. Sie konnte vernachlässigt werden, da in den Enzymdefekten die Massenbelegung des Kerns lichtoptisch entweder unverändert war oder die gelegentlich beobachtete Hyperchromasie zu einer Massenzunahme führte, so daß der H^3 -Cytidin-Einbau größer als angegeben sein dürfte (vergleiche Kunze und Mitarbeiter 1971).

Wie bereits erwähnt, ergaben autoradiographische Untersuchungen von Schauer und Kunze (1968) in den präcancerösen Enzymdefektbezirken der Rattenleber einen gegenüber der Umgebung um das 2 - 2,5-fache erhöhten Einbau von H^3 -Cytidin in den Zellkern.

Von einer verstärkten H^3 -Cytidin-Markierung in präneoplastischen basophilen Leberzellen der Portalfelder berichten auch Daoust (1968) und Briere und Daoust (1970) nach DAB-Applikation. Oehlert und Hartje (1963) und Cote und Mitarbeiter

(1962) wiesen ebenfalls eine gesteigerte RNA-Bildung in durch DÄNA cancerisierten Leberparenchymzellen nach. Diese Autoren deuten die gesteigerte RNA-Synthese als Reaktion des Zellkerns auf die durch das Carcinogen verursachte Störung des Cytoplasmas. Durch Vakuolisierung des endoplasmatischen Reticulums würde dessen hemmende Wirkung auf den Zellkern entfallen und so käme es zur unkontrollierten Neubildung von DNA und RNA.

Ein erhöhter H^3 -Cytidin-Einbau nach Cancerisierung mit Dibutylnitrosamin wurde auch in den meisten präcancerösen Defekten des Urothels von Kunze und Mitarbeitern (1971) festgestellt.

Andere Autoren berichten von einem initialen, wohl toxisch bedingten Absinken der RNA-Synthese während der Cancerisierung der Rattenleber mit DÄNA. Diesen Beobachtungen liegen Versuche zugrunde, bei denen der in vitro-Einbau von H^3 -Cytidin in Rattenleberexplantate gemessen wurde. Rajewski (1968) beschreibt ein initiales Absinken der RNA-Synthese vom 58.-75. Tag bei einer täglich zugeführten DÄNA-Dosis von 5 mg/kg KG, anschließend einen langsamen Anstieg und einen erhöhten RNA-Gehalt in den bereits malignen Zellen.

Damit stimmt die Beobachtung von Sporn und Dingmann überein (1966), die bei der Verwendung von N-hydroxy-2-acetylaminofluorene und 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene eine initiale Abnahme des RNA-Gehaltes fanden, während in den resultierenden Hepatomen der RNA-Gehalt stark angewachsen war. Einen erniedrigten H^3 -Cytidin-Einbau fanden auch Sinclair und Mc Carter (1964 bei Rajewski 1967) in Epidermiszellen von Mäusen nach Applikation von Dimethylbenzanthracen.

Für einen veränderten Einbau von H^3 -Cytidin in die präcancerösen Bezirke der Rattenleber bieten sich verschiedene Erklärungsmöglichkeiten an (Schauer und Kunze 1968; Schauer und Mitarbeiter 1971; Daoust 1968, Daoust und Simard 1972; Rajewski 1967).

Ursachen eines veränderten H^3 -Cytidin-Einbaues können sein:

1) Eine Änderung der RNA-Synthese

Der erhöhte H^3 -Cytidin-Einbau kann einer Steigerung der RNA-Synthese entsprechen. Seine Erniedrigung wäre dann Zeichen einer reduzierten RNA-Synthese. Ein vermehrter H^3 -Cytidin-Einbau könnte auch ausgelöst werden durch eine Aktivitätssteigerung der RNA-synthetisierenden Enzyme, z. B. der durch Cortisol beeinflussten DNA-abhängigen RNA-Polymerase.

2) Eine Änderung des endogenen Nucleotidpools

Eine Verkleinerung des Pools kann durch vermehrte Aufnahme von exogenem H^3 -Cytidin einen gesteigerten RNA-Stoffwechsel vortäuschen (Schauer und Mitarbeiter 1971; Schauer und Kunze 1973).

Eine vermehrte Bildung und Utilisation endogener Vorstufen könnte Grund für eine verminderte H^3 -Cytidin-Aufnahme sein.

3) Eine Aktivitätsänderung abbauender Enzyme

Der verminderte Abbau von exogenen markierten Vorstufen durch die Cytidineaminase könnte zu einer vermehrten H^3 -Cytidin-Markierung führen. In diesem Falle würde eine gesteigerte RNA-Synthese nur vorgetäuscht. Daoust und Simard (1972) berichten vom fokalen Verlust der Ribonucleaseaktivität in präcancerösen Defektbezirken (Rajewski 1968).

Ob den Veränderungen im RNA-Stoffwechsel entscheidende Bedeutung für die maligne Entartung der Zelle zukommt, läßt sich aus den zum Teil divergierenden Untersuchungsergebnissen nicht sicher beantworten (Rajewski 1968; Schauer und Mitarbeiter 1971). Daß sie mit dem Prozeß der Cancerisierung in Zusammenhang stehen, ist sehr wahrscheinlich, da

der RNA-Stoffwechsel der Tumorzellen auch in den Untersuchungen deutlich erhöht ist, die von einer erniedrigten H^3 -Cytidin-Einbaurate in die Leberparenchymzelle im Initialstadium der Cancerisierung berichten (Oehlert und Hartje 1963; Rajewski 1967).

Gleichzeitiger Einfluß von DÄNA und Fluocortolon auf den RNA-Stoffwechsel

Unter fortlaufender Applikation von Fluocortolon ist in der vorliegenden Untersuchung der H^3 -Cytidin-Einbau in die Zellkerne präcanceröser Enzymdefektbezirke weiblicher Ratten gegenüber der Umgebung zwar durchschnittlich um beinahe das 1,5-fache erhöht, doch ist ein signifikanter Unterschied gegenüber dem H^3 -Cytidin-Einbau in die Kerne präcanceröser Bezirke, die nicht unter Hormoneinwirkung standen, nicht zu erkennen. Fluocortolon hat also in dieser Phase der Cancerisierung keinen nachweisbaren Einfluß auf den RNA-Stoffwechsel der Zellkerne der präcancerösen Defektbezirke.

Denkbar wäre allerdings auch nach dem Befund von Rajewski (1968) und Sporn und Dingmann (1966), daß Corticosteron wie bei intakten Zellen zu einer Erhöhung der RNA-Synthese führt, daß dieses Ergebnis aber nicht sichtbar wird, da DÄNA in der Initialphase der Cancerisierung zur Erniedrigung der RNA-Synthese geführt hat.

Daß aber Glucocorticoide einen hemmenden Einfluß auf die präcanceröse Rattenleber ausüben können, beweist die Entwicklungshemmung der Enzymdefektbezirke, über die oben berichtet wurde.

Für einen hemmenden Einfluß dieser Nebennierenrindenhormone auf den Cancerisierungsprozeß sprechen auch die Untersuchungen anderer Autoren über die Wirkung von Glucocorticoiden auf das Wachstum von Induktions- und Transplantations-tumoren. So beobachteten Firminger und Reuber (1961), daß Desoxycorticosteronacetat sehr deutlich die Entstehung von Lebertumoren bei männlichen, adrenaletomierten Ratten hemm-

te, denen N-2-Fluorenyldiacetamid verabreicht worden war. Der "protective effect" des Glucocorticoids sei auffallend, unklar sei jedoch, wie die Wirkung zustande komme.

3. Deutung der Ergebnisse

Als Ursachen für die Hemmung der Zellcancerisierung durch Glucocorticoide werden verschiedene Möglichkeiten diskutiert:

- 1) Durch Neusynthese von RNA und Proteinen kann bis zu einem gewissen Maß dem Verlust an Enzymproteinen vorgebeugt werden. Die Induktion von "repair enzymes" könnte die cancerogen-bedingte Schädigung der Nucleinsäuren ausgleichen (Kodoma und Kodoma 1972; vergleiche Burkhard 1973).
- 2) Durch die antimitotische Wirkung der Glucocorticoide wird eine Vermehrung der genetisch geschädigten Zellen verhindert. Eine hemmende Wirkung des Cortisons auf Mitose und DNA-Stoffwechsel ist für die normale und regenerierende Rattenleber und für die Tumoren des lymphatischen Systems nachgewiesen (Bullough und Laurence 1965; Kummer und Ochs 1968; Drews 1968; Bullough und Mitarbeiter 1968; Kollmorgen und Griffin 1969; Rosen 1972; White 1972).
- 3) Glucocorticoide verändern die Permeabilität der Zellmembran. So läßt Desoxycorticosteronacetat vermindert Carcinogen in die Leberzelle eindringen (Firminger 1961). Hydrocortisonacetat hindert das Wachstum des Ehrlich Ascites-Tumors, indem es Chondroitinsulfat, das einen fördernden Effekt auf das Tumorstadium ausübt, nicht durch die Zellwand passieren läßt (Takeuchi 1966; Pincus und Mitarbeiter 1955).
- 4) Eine gewisse Sensivität gegenüber Cortison scheint die Voraussetzung dafür zu sein, daß das Hormon Einfluß auf den Stoffwechsel der Tumorzelle nehmen kann. Die Beziehung

zwischen der Cortisonempfindlichkeit und der Zellstruktur ist noch nicht geklärt (Kodoma und Mitarbeiter 1972). Ein morphologischer Ausdruck für die Beeinflußbarkeit eines Tumors durch Cortison ist nach Kodoma und Mitarbeitern (1972) das Auftreten degenerativ veränderter Mitochondrien.

- 5) Für die Tumorzellen des lymphatischen Systems scheint die Anwesenheit von Glucose in der Zelle eine Schlüsselrolle zu spielen, denn die Verhinderung der Glucoseaufnahme in der Zelle durch Glucocorticoide behindert den Glucosephosphatzycus und führt über eine verminderte Phosphorylierung zu einem Energiemangel der Zelle (Kummer und Ochs 1968).
- 6) Die immunsuppressive Wirkung der Glucocorticoide ist wohl verantwortlich für den fördernden Effekt des Cortisons auf Wachstum und Ausbreitung von transplantierten Tumoren (Dontenwill 1956; Brune und Mitarbeiter 1969; Kodoma 1970). Dieser Effekt wird als Folge der unterdrückten Wirtsresistenz angesehen.
- 7) Saldeen (1963) und Liebelt und Liebelt (1962) führen als Grund für die hemmende Glucocorticoidwirkung auf den Tumor die allgemeine Schwächung des Organismus durch den katabolen Hormoneffekt an, der auch die Tumorzelle betreffen würde.

Fluocortolon vermag nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit die Entwicklung von präcancerösen Enzymdefektbezirken der Rattenleber hinsichtlich Größe und Anzahl bis zum 160. Tag zu hemmen. Andererseits läßt sich ein Einfluß des Glucocorticoids auf den RNA-Stoffwechsel in den Zellen der Ausfallsbezirke bei den gewählten Versuchsbedingungen nicht nachweisen.

Dieser zunächst widersprüchlich erscheinende Befund ist vielleicht so zu erklären, daß Fluocortolon nur bis zu einem bestimmten Zeitpunkt die Leberzellen vor der konkurrie-

renden Wirkung des Carcinogens schützen kann. Doch sobald der durch Alkylierung der Nucleinsäuren entstandene genetische Defekt zur malignen Entartung der Zelle geführt hat, ist die Lebertumorzelle dem Einfluß des Hormons entzogen. Huggins (1960) berichtet ähnlich über die Wirkung von Hormonen auf benigne transplantable Fibroadenome: Mit Steroiden sei die Entstehung dieser Tumoren sehr effektiv zu blockieren, sobald der Tumor aber entstanden sei, könne er nicht mehr beseitigt werden.

Die Hemmung der malignen Umwandlung der Zelle durch die Glucocorticoidwirkung läßt sich gut in Einklang bringen mit dem beobachteten verzögerten Größenwachstum und der verlangsamt zunehmenden Zahl der Defektbezirke.

Daß Glucocorticoide nur vor der endgültigen Schädigung des genetischen Apparates auf die Leberzelle Einfluß nehmen können, würde auch mit den Untersuchungen von Schauer und Feichtner (1968) und Schauer und Kunze (1973) übereinstimmen, nach denen die Enzymdefekte irreversibel sind. Eine weitere Unterstützung erhält die These durch Firminger und Reuber (1961), Reuber (1965) und Kodoma und Mitarbeiter (1972). Ihren Beobachtungen zufolge verhindern Glucocorticoide zwar das Auftreten von Lebertumoren, jedoch ist ihnen eine Wirkung dieser Hormone auf bereits entwickelte Lebertumoren nicht bekannt.

Die irreversible Schädigung der Leberzelle, die jede weitere fördernde oder hemmende Beeinflussung des Wachstums unmöglich macht, entspricht möglicherweise dem Ansteigen der Proliferationsaktivität, die Rabes und Mitarbeiter (1972) in einzelnen durch DÄNA verursachten präcancerösen Enzymdefektbezirken feststellten, aus denen sich später Mikrocarcinome entwickeln.

ZUSAMMENFASSUNG

DÄNA (2 mg/kg KG) wurde an 168 Wistarratten während eines Zeitraumes von 65 bis zu 180 Tagen sechsmal wöchentlich mit der Schlundsonde verabreicht. 102 Tiere erhielten zusätzlich an sechs Tagen pro Woche Fluocortolon, ein Corticosteronderivat mit Glucocorticoidwirkung per Schlundsonde zugeführt. Die Dosis betrug bei Männchen 0,25 mg/kg KG, bei Weibchen 0,1 mg/kg KG/die.

In der Leber wurden vom 65. Tag an scharf abgegrenzte, herdförmige präcanceröse Enzymdefektbezirke der Adenosin-5'-Triphosphatase an 5 μ dicken Kryostatserienschnitten histochemisch nachgewiesen.

Als Größenmaß wurde der jeweils zu einem Versuchstermin ermittelte größte Enzymdefektbezirk planimetrisch bestimmt. Die Anzahl der Enzymausfallsbezirke wurde jeweils an dem Schnitt bestimmt, der die meisten Herde zeigte. Bei allen Versuchsgruppen wurde eine Zunahme der Größe und der Anzahl der Defektbezirke bis zum 160. Tag festgestellt.

Fluocortoloneinfluß verlangsamte sowohl das Größenwachstum als auch die Zunahme der Anzahl der Defektbezirke: Die Enzymausfallsbezirke der männlichen Tiere zeigten durchschnittlich 44 % und die der weiblichen Tiere 60 % der Größe, die die Inseln der Kontrolltiere aufwiesen. Die Anzahl der Inseln betrug bei männlichen Tieren, denen Fluocortolon appliziert worden war, durchschnittlich nur 9 %, bei den Weibchen 40 % der bei den Kontrollen beobachteten Anzahl.

Autoradiographische Untersuchungen über den RNA-Stoffwechsel wurden an 51 Defektbezirken weiblicher Ratten nach Zufuhr von DÄNA und Fluocortolon über einen Zeitraum von 110 - 180 Tagen durchgeführt. Eine Stunde nach intraperitonealer Injektion von H^3 -Cytidin ergab sich in 48 von 51 Enzymdefekt-

bezirken eine durchschnittliche Erhöhung des H^3 -Cytidin-Einbaues um das 1,44-fache des umgebenden Leberparenchyms. Ein signifikanter Unterschied zum H^3 -Cytidineinbau in die RNA der Zellkerne ohne Fluocortoloneinfluß ließ sich nicht feststellen.

LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Agarwal, M.K., Hanoune, J., Yu, F.L., Weinstein, I.B. and Feigelson, P.: Studies on the effect of cortisone on rat liver transfer RNA
Biochemistry 8, 4806 (1969)
- (2) Allison, A.: Lysosomes in relation to cancer induction and treatment
Europ. J. Cancer 3, 481 (1968)
- (3) Alonso, A. und Citoler, P.: Wirkung von Cycloheximid auf den Eiweißstoffwechsel der mit Diäthylnitrosamin cancerisierten Leber
Z. Krebsforschung 75, 255 (1971)
- (4) Amaral, L., Moriber, G.I. and Himes, M.: The effect of cortisone on the volume and total protein content of mouse liver nuclei
J. Cell Biol. 42, 835 (1969)
- (5) Amano, H. and Daoust, R.: The distribution of ribonucleic activity in rat liver during azo-dye carcinogenesis
J. Histochem. Cytochem. 9, 161 (1961)
- (6) Amaral, L. and Werthamer, S.: The inhibitory effect of cortisone on the synthesis of mouse liver DNA
Life Science 9, 1261 (1970)
- (7) Antopol, W., Glaubach, S. and Graff, S.: Retardation of growth of implants of carcinoma 755 in cortison-injected of mice
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86, 304 (1954)
- (8) Bader, G., Stiller, D. und Ullrich, K.: Elektronenmikroskopische Veränderungen der toxisch geschädigten und proliferierenden Rattenleber
Arch. Geschwulstforsch. 37, 327 (1971)

- (9) Ballard, P. and Tomkins, G.M.: Glucocorticoid-induced alteration of the surface membrane of cultured hepatoma cells
J. Cell Biol. 47, 222 (1970)
- (10) Bannasch, P.: Nitrosamin-induzierte Glykogenase und Geschwulstbildung in der Rattenleber
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 51, 343 (1967)
- (11) Baulieu, E.E., Milgrom, E., Lebeau, M.C., Mercier-Bodard, C., Weintraub, H. and Robel, P.: Interaction between steroids conjugates and proteins
Advances in the Biosciences 2, 145 (1968)
- (12) Baxter, J.D. and Tomkins, G.M.: Glucocorticoid hormone receptors
Advances in the Biosciences 7, 331 (1970)
- (13) Baxter, J.D. and Tomkins, G.: Specific cytoplasmatic glucocorticoid hormone receptors in hepatoma tissue culture cells
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68, 932 (1971)
- (14) Beato, M., Homoki, J., Lucacs, I. and Sekeris, C.E.: Increased template activity for RNA synthesis of rat liver nuclei incubated with cortisol "in vitro"
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 349, 1099 (1968)
- (15) Beato, M., Homoki, J. and Sekeris, C.E.: Uptake of 1,2-³H-cortisol by isolated rat liver nuclei
Exp. Cell Res. 55, 116 (1969)
- (16) Beato, M.: Cortisol
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 341, 741 (1970)

- (17) Berliner, D.L. and Dougherty, T.F.: Hepatic and extrahepatic regulation of corticosteroids
Pharmac. Rev. 13, 329 (1961)
- (18) Bloom, H.J.G., Dukes, C.E. and Mitchley, B.C.V.: Hormone-dependent tumors of the kidney
Brit. J. Cancer 17, 611 (1963)
- (19) Bogdanski, D.F., Blaszkowski, T.P. and Brodie, B.B.: Effects of enzyme induction on synthesis and catabolism of corticosterone in rats
J. Pharm. Exp. Ther. 179, 372 (1971)
- (20) Briere, N. and Daoust, R.: Histochemical studies on rat liver proteins during 4-dimethylaminoazobenzene carcinogenesis
Cancer Res. 30, 1370 (1970)
- (21) Brune, H., Henning, S. und Schmähl, D.: Der Einfluß von Glucocorticoiden auf das Wachstum und die chemotherapeutische Beeinflußbarkeit autochtoner Benzpyren-Sarkome bei Mäusen
Z. Krebsforsch. 72, 213 (1969)
- (22) Bullough, W.S.: Mitotic and functional homeostasis: A speculative review
Cancer Res. 25, 1683 (1965)
- (23) Bullough, W.S. and Laurence, E.: The role of glucocorticoid hormones in the control of epidermal mitosis
Cell Tissue Kinetics 1, 5 (1968)
- (24) Burkhard, B.: Einfluß von Fluocortolon auf die Entwicklung praeneoplastischer Enzymdefektbezirke induziert durch DÄNA
Dissertation, München 1973

- (25) Bush, J.E.: Chemical and biological factors in the activity of adrenalcortical steroids
Pharmac. Rev. 14, 317 (1962)
- (26) Clark, J.H. and Pesch, A.L.: Effects of cortisone upon liver enzymes and protein synthesis
J. Pharm. Exp. Ther. 117, 202 (1956)
- (27) Clayman, M., Tsang, D. and Johnstone, R.M.: ACTH, corticosteroids and inhibition of protein synthesis
Endocrinology 86, 931 (1970)
- (28) Colby, D., Howard, D. and Kitay, J.: Sex and substrate effects on hepatic corticosteroid metabolism in the rat
Endocrinology 90, 473 (1972)
- (29) Cote, J., Oehlert, W. und Büchner, F.: DNS-Synthese der Leberparenchymzelle der Ratte
Beitr. path. Anat. 127, 450 (1962)
- (30) Cox, R.F. and Mathias, A.P.: Cytoplasmic effects of cortisol in liver
Biochem. J. 115, 777 (1969)
- (31) Dannenberg, H.: Zum wirkungsmechanismus krebserzeugender Faktoren
Dtsch. med. Wschr. 88, 605 (1963)
- (32) Daoust, R. and Simard, A.: Radioautographic study on RNA labelling in rat liver parenchym during DAB carcinogenesis
Cancer Res. 28, 874 (1968)

- (33) Daoust, R.: Focal loss of ribonucleic activity in praeneoplastic rat liver activity
Cancer Res. 32, 2502 (1972)
- (34) De Baun, R., Miller, E. and Miller, J.: N-Hydroxy-2-acetyl-aminofluorene sulfotransferase: Its probable role in carcinogenesis and in protein-(methion-S-yl) binding in rat liver
Cancer Res. 30, 577 (1970)
- (35) Domenico, A., Gibian, H., Kerb, U., Kieslich, K., Kramer, M., Neumann, F. und Raspe, G.: Chemie und Pharmakologie eines neuen entzündungshemmenden Corticosterons, des 6~~d~~-Fluor-16-methyl-1,4-pregnadien-11 β -21-diol-3,20-dion (Fluocortolon) und seines Capronates
Arzneimittelforsch. 15, 46 (1965)
- (36) Dontenwill, W.: Über spezifische Abwehrvorgänge bei malignen Geschwülsten
Verh. Dtsch. Ges. Pathol., Stuttgart 1956
- (37) Dontenwill, W.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Hormonen auf das Walker-Ca der Ratte und auf die Entwicklung des Benzpyrentumors der Mäusohaut
Z. Krebsforsch. 60, 482 (1955)
- (38) Drews, J., Brawerman, G. and Morris, H.P.: Nucleotide sequence homologies in nuclear and cytoplasmatic RNA from rat liver and hepatomas
Europ. J. Biochem. 3, 284 (1968)
- (39) Drews, J.: The effect of prednisolon injected in vivo in RNA synthesis in rat thymus cells
Europ. J. Biochem. 7, 200 (1969)
- (40) Drews, J. and Wagner, L.: The effect of prednisolon injected in vivo on RNA polymerase activity in isolated rat thymus nuclei
Europ. J. Biochem. 13, 231 (1970)

- (41) Dunn, J. and Scheving, L.: Plasma corticosterone levels in rats killed sequentially at the "through" or "peak" of the adrenocortical cycle
J. Endocrinol. 49, 347 (1971)
- (42) Ezdinli, E., Stutzman, L., Aungst, C.W. and Dinger, F.: Corticosteroid therapie for lymphomas and chronic lymphocytic leukemia
Cancer 23, 900 (1969)
- (43) Fallon, H. and Byrne, W.: Depression of enzyme activity by cortison: An effect of serine metabolism
Endocrinol. 80, 847 (1967)
- (44) Farber, E.: Biochemistry of cancerogenesis
Cancer Res. 28, 1859 (1968)
- (45) Feigelson, P. and Feigelson, M.: Studies on the mechanism of cortisone action in: Litwack, G. and Kritchevsky, D.: Actions of hormones on molecular processes, ed. by Wiley, New York, 1964, pp. 218
- (46) Firminger, H.J. and Reuber, M.D.: Influence of adrenocortical, androgenic and anabolic hormones and the development of carcinoma and cirrhosis of the liver in A x C rats fed N-fluorenyldiacetamide
J. Nat. Canc. Inst. 27, 572 (1961)
- (47) Frederick, G. and Germuth, J.: Role of adrenocortical steroids ind diseases
Pharmacol. Rev. 8, 1 (1956)
- (48) Friedrich-Frekxa, H., Gössner, W. und Börner, P.: Histochemische Untersuchungen der Cancerogenese in der Rattenleber nach Dauergaben von Diäthylnitrosamin
Z. Krebsforsch. 72, 226 (1969)

- (49) Friedrich-Freksa, H., Papadopoulou, G. und Gössner, W.: Histochemische Untersuchungen der Cancerogenese in der Rattenleber nach zeitlich begrenzter Verabfolgung von Diäthylnitrosamin
Z. Krebsforsch. 72, 240 (1969)
- (50) Frowein, J.: Wirkungsmechanismus von Hormonen aus molekularbiologischer Sicht
Dtsch. med. Wschr. 97, 1918 (1972)
- (51) Furth, J.: Influence of host factors on the growth of neoplastic cells
Cancer Res. 23, 21 (1965)
- (52) Gelehrter, T.D. and Tomkins, G.M.: The role of RNA in hormonal induction of tyrosin-aminotransferase in mammalian cells of tissue culture
J. Molec. Biol. 29, 59 (1967)
- (53) Goldfarb, S.: A morphological and histochemical study of carcinogenesis of the liver in rats fed 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene
Cancer Res. 33, 1119 (1973)
- (54) Gronow, M.: Imbalances in DNA and histone synthesis in the rat liver during neonatal carcinogenesis induced by nitrosamin
Europ. J. Cancer 7, 341 (1971)
- (55) Grundmann, E. und Sieburg, H.: Die Histogenese und Cytogenese des Lebercarcinoms der Ratte durch Diäthyl-nitrosamin im lichtmikroskopischen Bild
Zieglers Beitr. Path. Anat. 126, 56 (1962)
- (56) Grunicke, H., von Potter, R. and Morris, H.: Comparative studies on nuclei and chromatin of hepatoma and rat liver
Cancer Res. 30, 776 (1970)

- (57) Guillemin, R., Wayne, D. and Liebelt, R.A.: Nychter-
meral variations in plasma free corticosteroid le-
vels of the rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 394 (1959)
- (58) Guzek, J.: Effect of corticotropin and cortisone of
the incorporation of ³H-thymidine into DNA of the
regenerating liver in the white rat
Acta Endocrinol. 59, 10 (1968)
- (59) Hadjolev, D.: Histochemical studies of glucose-6-
phosphatase activity in the early proliferative
stage of liver carcinogenesis
Z. Krebsforsch. 70, 109 (1967)
- (60) Hamilton, T.H.: Steroid hormones, ribonucleic acid
synthesis and transport and the regulation of cy-
toplasmatic translation in: Smellie, R.: The bio-
chemistry of steroid hormone action, ed. by Acade-
mic Press, London-New York, 1971, pp. 49
- (61) Hanoune, J. and Feigelson, P.: The absence of corti-
sone effect on the synthesis of specific histones
and ribosomal protein subunits in liver
Biochem. and biophys. Res. Comm. 34, 2 (1969)
- (62) Hanoune, J. and Feigelson, P.: Turnover of protein
and RNA of liver ribosomal components in normal and
cortison-treated rats
Biochim. Biophys. Acta 199, 214 (1970)
- (63) Harbers, E.: Nucleinsäuren
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1969, S. 142f
- (64) Hartveit, F.: The dual effects of cortisone on the
growth of Ehrlich aszites Ca
Brit. J. Cancer 19, 594 (1965)

- (65) Hayashi, M., Griffin, A., Duff, R. and Rapp, F.: Chromatographic studies of tyrosyl and phenylalanyl transfer RNA's of liver and tumor cells
Cancer Res. 33, 902 (1973)
- (66) Herderson, I.C., Fischel, R. and Loeb, J.: Suppression of liver DNA synthesis by cortisone
Endocrinology 88, 1471 (1971)
- (67) Hennings, H. and Elgio, K.: Hydrocortisone: Inhibition of DNA-synthesis and mitotic rate after local application to mouse epidermis
Virch. Arch. 8, 42 (1971)
- (68) Hepding, L., Bertram, H.J., Clauss, A., Jahn, U. und Kieser, H.: Die Wirkungsqualitäten des 16-Methylen-prednisolon im Tierversuch
Arzneimittelforsch. 12, 899 (1962)
- (69) Hermann, J. und Staib, W.: Beziehung zwischen Lipolyse, Gluconeogenese und Insulinsekretion nach Cortisolgabe an Ratten
Europ. J. Biochem. 7, 427 (1969)
- (70) Hildebrand, H.: Karyometrische Untersuchungen über die Wirkung von Prednisolonacetat und Cyclophosphamid auf die mit Thioacetamid geschädigte Leber der Ratte
Beitr. path. Anat. 139, 439 (1969)
- (71) Hines, W.J.: The effect of two synthetic steroids on the ultrastructure of the liver of *Rattus norvegicus* I
J. Pharm. Pharmac. 21, 509 (1969)
- (72) Hobik, H. und Grundmann, E.: Quantitative Veränderungen der DNS und RNS in der Rattenleberzelle während der Carcinogenese durch DÄNA
Beitr. path. Anat. 126, 25 (1962)

- (73) Hochheuser, W. und Sovatzoglou, A.: Kortikoidtherapie mit Fluocortolon
Münch. med. Wschr. 19, 892 (1970)

- (74) Huggins, C.: Steroids, growth and cancer
in: Pincus, G. and Vollmer, E.: Biological activities of steroids in relation to cancer
New York, 1960, pp. 1

- (75) Hunter, G., Kalf, G. and Morris, H.: Partial characterisation of the DNA dependent polymerases of rat liver and hepatoma
Cancer Res. 33, 987 (1973)

- (76) Iverson, O.: Some theoretical considerations on chaperones and the treatment of cancer
Cancer Res. 30, 1481 (1970)

- (77) Jacob, S. T., Sajdel, E.M. and Munroe, H. D.: Regulation of nuclear RNA metabolism by hydrocortisone
Europ. J. Biochem. 7, 449 (1969)

- (78) Jensen, E., Numata, M., Brecher, P. and Desombre, E. R.: Hormonreceptor interaction as a guide to biochemical mechanism in: Smelli, R.: The biochemistry of steroid hormone action
ed. by Academic Press, London-New York, 1971, pp.133

- (79) Kallum, B., and Saldeen, T.: Experimental investigation on influence of hydrocortisone on spread of transplanted rous rat sarcome in syngenic tumor host system
Acta path. et microbiol. scand. 70, 12 (1967)

- (80) Karlson, P.: Biochemische Wirkungsweise der Hormone
Dtsch. med. Wschr. 86, 668 (1961)

- (81) Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1967, S. 216
- (82) Karlson, P. und Sekeris, C.: Wirkungsmechanismus der Steroidhormone
Dtsch. med. Wschr. 98, 831 (1973)
- (83) Kato, R. and Tokahashi, A.: Decreased hydroxylation of steroid hormones by liver mikrosomes from rats bearing Walker carcinosarkoma 256
Cancer Res. 30, 2346 (1970)
- (84) Kidson, C. and Kirby, K.S.: Selective alterations of mammalian messenger RNA synthesis: Evidence for differential action of hormones on gene transcription
Nature 203, 599 (1964)
- (85) Kimberg, D., Loud, A. and Wiener, J.: Cortison induced alterations in mitochondrial function and structure
J. Cell Biol. 37, 63 (1968)
- (86) Kizer, D., Cox, B., Howell, B. A. and Shirley, B.C.: Effects of hepatocarcinogens on hepatocyte DNA synthesis and cortisone induction of tryptophanoxygenase
Cancer Res. 29, 2039 (1969)
- (87) Kodoma, M.: Effect of hydrocortisone on Ehrlich ascites tumor
Cancer Res. 22, 1212 (1962)
- (88) Kodoma, T. and Kodoma, M.: Ultrastructural alterations in the liver parenchymal cells and thymus lymphocytes following the administration of hydrocortisone
Cancer Res. 32, 208 (1972)

- (89) Kodoma, M., Sugiura, T. and Kodoma, T.: Ultrastructural changes of mitochondria of the neoplastic cells following the administration of corticosteroids
Cancer Res. 32, 215 (1972)
- (90) Kollmorgen, G.M. and Griffin, M.: The effect of hydrocortisone on HeLa cell growth
Cell Tissue Kinet. 2, 111 (1969)
- (91) Kracht, J.: Vergleichende Untersuchungen über die Hypophysenhemmwirkung von 16-Methylprednisolon
Münch. med. wscrh. 104, 1022 (1962)
- (92) Kraft, H. G. und Harting, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen mit einem 9 α -Fluor-16-methylen-prednisolonester
Arzneimittelforschung 18, 15 (1968)
- (93) Kroeger, H.: Ekdysen
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 351, 780 (1970)
- (94) Krüger, F. W.: New aspects in metabolism of carcinogenic nitrosamines in: Topics in chemical carcinogenesis
ed. by University Park Press, Baltimore-London-Tokyo, 1972, pp. 213
- (95) Kummer, D. und Ochs, D.: Cytostatischer Wirkungsmechanismus von Cortisol und verwandten Steroiden an Krebszellen
Z. ges. exp. Med. 147, 291 (1968)
- (96) Kunze, E., Schauer, A. und Spielmann, J.: Autoradiographische Untersuchungen über den RNS-Stoffwechsel während der Entwicklung von Dibutylnitrosamin-induzierten Harnblasentumoren der Ratte
Z. Krebsforsch. 76, 236 (1971)

- (97) Kuschinsky, G. und Lüllmann, H.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1970, S. 207ff
- (98) Lang, N.: Steroid hormones and enzyme induction
in: Smellie, R.: The biochemistry of steroid hormone action
ed. by Academic Press, London-New York, 1971, pp. 85
- (99) Lang, N., Herrlich, P. and Sekeris, C.: On the mechanism of hormone action VII: Induction by cortisol of a messenger RNA coding for tyrosine-~~α~~-ketoglutarate transaminase in an in vitro system
Acta Endocrinol. 57, 33 (1968)
- (100) Lawley, P. and Brookes, P.: Molecular mechanism of the cytotoxic action of difunctional alkylating agents and of resistance to this action
Nature 206, 480 (1965)
- (101) Lawley, P.: The action of alkylating mutagens and carcinogens on nucleic acids: N-methyl-N-nitroso-compounds as methylating agents
in: Topics in chemical carcinogenesis
ed. by University Park Press, Baltimore-London-Tokyo, 1972, pp. 237
- (102) Ledinco, N. and Toolan, H.: Cortisone inhibition of nuclear RNA polymerase of the human neoplasm H.Emb.Rh 1, transplanted in rats
Endocrinol. 83, 371 (1968)
- (103) Leon, H.S.: Early effects of corticosterone on amino acid incorporation by rat liver system subsequent to its in vivo injection
Endocrinol. 78, 481 (1966)

- (104) Lesch, R., Meinhardt, K. und Oehlert, W.: Licht-
mikroskopische und autoradiographische Befunde bei
der Cancerisierung der Rattenleber mit Methyl-Allyl-
Nitrosamin
Z. Krebsforsch. 70, 267 (1967)
- (105) Liao, M.C., Hunt, J., Smith, D.W. and Hurlbert, R.B.:
Inhibition of transfer and ribosomal RNA methylases
by polyinosinate
Cancer Res. 33, 323 (1973)
- (106) Liebelt, A. und Liebelt, R.: Influence of gonadal hor-
mones and cortisone of spontaneous and methylcholan-
threne induced leukemia in inbred mice
Cancer Res. 22, 1180 (1962)
- (107) Litwack, G. and Baserga, R.: Determination of cellular
and subcellular distribution of tritiated cortisol deri-
vates in rat liver by autoradiography
Endocrinol. 80, 774 (1967)
- (108) Llauro, J.: Some biological actions of 16-methylene
derivates of prednisolon and cortisol in rat
Endocrinol. 70, 633 (1962)
- (109) Loeb, J. N. and Tolentino, E.M.: Effects of cortisone
on ribosomal RNA synthesis in rat liver
Endocrinol. 86, 1033 (1970)
- (110) Lowy, J., Albepart, T. and Pasqualini, J.: ^3H -corti-
costerone metabolism in the rat
Acta endocrinol. 61, 483 (1969)
- (111) Lucacs, J. and Sekeris, E.C.: Stimulation of RNA poly-
merase activity of rat liver nuclei by cortisol
Biochem. Biophys. Acta 134, 85 (1967)

- (112) Mac Gregor, R. and Mahler, H.R.: Subfractionation and polyacrylamide gel analysis of liver ribonucleic acid from normal and glucocorticoid treated rats
Biochem. 8, 3036 (1969)
- (113) Magee, P.N.: Toxic liver injury. The metabolism of dimethylnitrosamine
Biochem. J. 64, 676 (1956)
- (114) Magee, P.N. and Lee, K.Y.: Cellular injury and carcinogenesis: Alkylation of ribonucleic acid of rat liver by Dimethylnitrosamine in vivo
Biochem. J. 91, 35 (1964)
- (115) Marc, V. and Morselli, P.L.: Metabolism of exogenous cortisol in the rat in various experiental conditions
J. Pharm. Pharmac. 21, 865 (1969)
- (116) Mc Lean, A. and Verschuren, H.C.: Effects of diet and microsomal enzyme induction on the toxicity of Dimethylnitrosamine
Brit. J. exp. Path. 50, 22 (1969)
- (117) Meiers, H.G., Breien, W., Dieterich, T. und Staib, W.: Untersuchungen zur gluconeogenetischen Wirkung von Cortisol
Acta Endocrinol. 60, 4 (1969)
- (118) Melnycovych, G.: Glucocorticoid induced resistance to deoxycholate lysis in HeLa cells
Science 152, 1086 (1966)
- (119) Mizukami, T., Kozaka, S. und Nishio, I.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Hormonen auf sogenannte nicht hormonabhängige Tumoren
Arch. f. Geschwulstf. 33, 217 (1969)

- (120) Mölbert, E., Hill, K. und Büchner, F.: Die Kanzerisierung der Leberparenchymzelle durch Diäthylnitrosamin im elektronenmikroskopischen Bild
Beitr. path. Anat. 126, 218 (1962)
- (121) Morey, K. and Litwack, G.: Isolation and properties of cortisol metabolite binding protein of rat liver cytosol
Biochem. 8, 12 (1969)
- (122) Morita, Y. and Munck, A.: Effect of glucocorticoids in vivo and in vitro on net glucose uptake and amino acid incorporation by rat thymus cells
Biochim. Biophys. Acta 93, 150 (1964)
- (123) Morris, H.P. and Firminger, H.J.: Influence of sex and sex hormones on development of hepatomas and other hepatic lesions in strain A x C rats ingesting 2-diacetylaminofluorene
J. Nat. Cancer Inst. 16, 927 (1956)
- (124) Oehlert, W. und Hartje, J.: Die Veränderungen des Eiweiß-Ribonucleinsäure-Stoffwechsels der Leberepithelzelle während der experimentellen Cancerisierung durch DÄNA
Beitr. path. Anat. 128, 376 (1963)
- (125) Ohtsuka, E. and Koide, S.: Invitro stimulation of RNA synthesis in isolated rat liver nuclei by glucocorticoids
Biochem. Biophys. Res. Comm. 35, 684 (1969)
- (126) Ottolenghi, C. and Barnabei, O.: Reduced breakdown in vivo of liver microsomal ribonucleic acid and protein in rats treated with cortisone
Endocrinol. 86, 949 (1970)

- (127) Pearson, O.H., II., M., Maclean, J.P., Lipselt, M.B. and West, C.D.: The use of hydrocortisone in cancer
Ann. New York Acad. Science 61, 393 (1955)
- (128) Pincus, G. and Thimann, K.V.: The hormones
Academic Press New York, Vol. III, 1955, pp. 751
- (129) Pitot, H.: Some biochemical aspects of malignancy
Ann. Rev. Biochem. 35, 335 (1966)
- (130) Polet, H.: The effect of hydrocortisone in the membranes of primary human amnion cells in vitro
Exp. Cell Res. 41, 316 (1966)
- (131) Polliack, A., Charuzy, J. and Levi, J.S.: The effect of oestrogen on 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) induced cheek pouch carcinoma in castrated and non castrated male syrian golden hamsters
Brit. J. Cancer 22, 781 (1969)
- (132) Rabes, H., Hartenstein, R. and Scholze, P.: Specific stages of cellular response to homeostatic control during diethylnitrosamine-induced liver carcinogenesis
Experientia 26, 1356 (1970)
- (133) Rabes, H., Scholze, P., Jantsch, B.: Growth kinetics of diethylnitrosamine-induced, enzyme-deficient "pre-neoplastic" liver cell populations in vivo and in vitro
Cancer Res. 32, 2577 (1972)
- (134) Rajewsky, M.F.: Changes in DNA synthesis and cell proliferation during hepatocarcinogenesis by diethylnitrosamine
Europ. J. Cancer 3, 335 (1967)

- (135) Rajewsky, M.F.: Zur RNA Synthese im Verlauf der Lebercarcinogenese durch Diäthylnitrosamin
Z. Krebsforsch. 70, 314 (1968)
- (136) Reuber, M.D.: Role of the adrenal glands in the development of lesions of the liver in rats ingesting N-2-fluorenyldiacetamid
J. Nat. Cancer Inst. 34, 587 (1965)
- (137) Rizzo, A. and Webb, T.: Ribosome formation in rat liver: Evidence for posttranscriptional control
Biochim. Biophys. Acta 195, 109 (1965)
- (138) Rizzo, A., Heilpern, P. and Webb, T.: Temporal changes in DNA and RNA synthesis in the regenerating liver of hydrocortison treated rats
Cancer Res. 31, 876 (1971)
- (139) Romen, W., Ross, W. und Bannasch, P.: Cytomorphologische und morphometrische Studien der Hepatocarcinogenese II. Reversibilität von Kerngrößenänderungen in der Nitrosomorpholin-vergifteten Rattenleber
Z. Krebsforsch. 77, 134 (1972)
- (140) Rosen, J.M., Fina, I.J., Milholland, R.J. and Rosen, F.: Inhibitory effect of cortisol in vitro on 2-Deoxyglucose uptake and RNA and protein metabolism in lymphosarcoma P 1798
Cancer Res. 32, 350 (1972)
- (141) Rudermann, N.B. and Hall, T.: Use of glucocorticoids in the palliative treatment of metastatic brain tumors
Cancer 18, 303 (1965)
- (142) Saldeen, T.: Experimental studies on spread of rous sarcoma in rats
Acta path. Scand. 162, 51 (1963)

- (143) Schauer, A. und Kunze, E.: Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diäthylnitrosamin
Z. Krebsforsch. 70, 252 (1968)
- (144) Schauer, A. und Feichtner, A.: Enzymhistochemische Untersuchungen über den Nucleosidphosphat- und Kohlenhydratstoffwechsel während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diäthylnitrosamin (DÄNA) durch dosierte orale Zufuhr des Cancerogens
Klin. Wschr. 46, 1286 (1968)
- (145) Schauer, A., Kunze, E., Burkhard, B. und Rosnitschek, J.: Beeinflussung der Cancerisierung der Rattenleber durch Steroidhormone
Naturwiss. 57, 676 (1970)
- (146) Schauer, A. and Kunze, E.: Liver tumours of the rat
Handbuchartikel der WHO
IARC Scientific Publications 1973 (in press)
- (147) Scherer, E. and Hofmann, M.: Probable clonal genesis of cellular islands induced in rat liver by diethylnitrosamine
Europ. J. Cancer 7, 369 (1971)
- (148) Schmährl, D., Osswald, H. und Goertler, K.: Cancerogene Wirkung von DÄNA bei Schweinen
Z. Krebsforsch. 72, 102 (1969)
- (149) Schriefers, H.: Factors regulating the metabolism of steroids in the liver
Advances in the Bioscience 2, 69 (1968)
- (150) Sekeris, C.E.: Wirkung der Hormone auf den Zellkern
18. Colloquium der Ges. f. physiol. Chemie 1967

- (151) Sekeris, C., Homoki, Y. and Beato, M.: Effects of cortisol and actinomycin D on RNA polymerase activity of rat liver nuclei: Importance of sequence of administration
20. Colloquium der Ges. f. physiol. Chemie 1969
- (152) Sie, H.G., Hablahian, H. and Fishman, W.: Divergent effects of actinomycin D on cortisol and on glucose stimulation of glucogenesis in mouse liver
Biochem. J. 102, 103 (1967)
- (153) Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1973. S. 316
- (154) Sluyser, R.M.S.: Interaction of steroid hormones and histones in: Smellie, R: The biochemistry of steroid hormone action
Academic Press, London-New York, 1971, pp. 31
- (155) Sporn, M. and Dingman, C.W.: Studies on chromatin II: Effect of carcinogens on rat liver chromatin
Cancer Res. 26, 2488 (1966)
- (156) Stackhouse, H.C., Chetsanga, C.J. and Tan, C.H.: The effect of cortisol on genetic transscription in rat liver chromatin
Biochim Biophys. Acta 155, 159 (1968)
- (157) Swann, P.F. and Magee, P.N.: Nitrosamine-induced carcinogenesis
Biochem. J. 110, 39 (1968)
- (158) Süß, R., Kinzel, R. und Scribner, J.D.: Krebs
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1970

- (159) Takeuchi, J., Kanob, S. and Tauchi, H.: Influences of age and sex on the effect of hydrocortison upon the Ehrlich tumor and the adrenal gland
Brit. J. Cancer 19, 353 (1965)
- (160) Takeuchi, J.: Effect of chondroitin sulfate on the growth of solid Ehrlich ascites tumor under the influence of hydrocortisone
Brit. J. Cancer 20, 847 (1966)
- (161) Thompson, E.B., Tomkins, G.M. and Curran, J.F.: Induction of tyrosin- -ketoglutarate transaminase by steroid hormones in a newly established tissue culture cell line
Proc. Nat. Acad. Scienc. USA 56, 296 (1966)
- (162) Tomkins, G.M., Gelehrter, T.D., Granner, D., Martin, D., Semnells, H.H., Thompson, E.B.: Control of specific gene expression in higher organisms
Science 166, 1474 (1969)
- (163) Webb, T. and Wozney, L.R.: Inhibition of DNA synthesis in regenerating rat liver by hydrocortisone
Experientia 25, 1240 (1969)
- (164) Weissmann, G. and Thomas, L.: The effect of corticosteroids upon connective tissue and lysosomes
Rec. Prog. Horm. Res. 20, 215 (1964)
- (165) Wesemann, H.G.: Beeinflussung der Leberregeneration durch Nahrungsentzug und Eingriffe am Endokrinium
Dissertation, München 1972
- (166) Wiener, J., Loud, A.D., Kimberg, D. and Spiro, D.: A quantitative description of cortisone-induced alterations in the ultrastructure of rat liver parenchyma cells
J. Cell Biol. 37, 47 (1968)

- (167) White, A.: Mechanisms of hormone action of corticosteroids in relation to control of neoplasia in: Wissler, R.W., Dao, T.L. and Wood, W.J.: Endogenous factors influencing host tumor balance The University of Chicago Press 1967, pp. 43
- (168) Williams, G. and Yamanato, R.S.: Absence of stainable iron from preneoplastic and neoplastic lesions in rat liver with 8-hydroxyquinoline-induced siderosis
J. Nat. Cancer Inst. 49, 685 (1972)
- (169) Williams-Ashman, H.G.: New facts of biochemistry of steroid hormone action
Cancer Res. 25, 1104 (1965)
- (170) Yielding, K.L. and Tomkins, G.M.: Inhibition of the enzyme oxidation of DPNH by steroid hormones
Proc. Nat. Acad. Scienc. USA 45, 1730 (1959)
- (171) Yielding, K.L., Tomkins, G.M., Munday, J.S. and Cowley, I.J.: The effect of steroids on electron transport
J. Biol. Chem. 235, 3403 (1960)

Herrn Prof. Dr. A. Schauer gilt mein Dank für die Überlassung des Themas und das Interesse, das er dem Fortgang der Arbeit entgegenbrachte.

Herrn Dr. E. Kunze, Frau R. Polt, Frau R. Schwaiger, Frl. H. Vondracek danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen und Frau E. Wieninger für ihre Hilfe bei der Anfertigung der Abbildungen.

Die Arbeit wurde mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 51) unterstützt.

L e b e n s l a u f

Am 10. Juni 1942 wurde ich, Albert Zech, als Sohn des Regierungsassessors Albert Zech und seiner Ehefrau Liselotte, geb. Menninger, als erstes von sechs Kindern in Landshut (Bayern) geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule von 1948 - 1952 trat ich 1952 in das Humanistische Hans-Carossa-Gymnasium in Landshut ein. Dort legte ich im Juni 1961 die Reifeprüfung ab.

Vom Wintersemester 1961/62 bis zum Sommersemester 1966 studierte ich an der Phil.-theol. Hochschule Freising und an der Theologischen Fakultät der Universität München Philosophie und katholische Theologie. Dieses Studium beendete ich am 16. Juli 1966 mit der Theologischen Abschlußprüfung.

Im Wintersemester 1966/67 nahm ich an der Medizinischen Fakultät der Universität München das Studium der Medizin auf. Im Sommersemester 1969 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und am 21. Dez. 1972 beendete ich die ärztliche Prüfung.

Als Medizinalassistent war ich am Pathologischen Institut der Universität München, an der Chirurgischen Abteilung des Hafenkrankenhauses Hamburg und an der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Moabit in Berlin.

Am 16. Mai 1974 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Seit 1.6.1974 bin ich als Assistenzarzt am Röntgeninstitut des Städtischen Krankenhauses Moabit in Berlin tätig.

